

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

PHAGOCYTOSE D'UNE FRACTION DU SÉRUM CHAUFFÉ ET IODÉ PAR LE SYSTÈME RÉTICULO-ENDOTHÉLIAL ET COMPORTEMENT CONSÉCUTIF DE SES CELLULES A L'ÉGARD D'AUTRES COLLOÏDES

par B. BENACERRAF, B. N. HALPERN, C. STIFFEL, S. CRUCHAUD
et G. BIOZZI (*).

(Laboratoire de Médecine Expérimentale
de la Clinique Médicale Propédeutique de l'Hôpital Broussais
[professeur PASTEUR VALLERY-RADOT] et C. N. R. S.)

Lors de nos recherches précédentes [1, 2, 3, 4, 5, 6] sur l'activité phagocytaire (1) du système réticulo-endothélial (S. R. E.) chez les diverses espèces animales, nous avons établi un certain nombre de facteurs qui régissent cette fonction et qui semblent être d'ordre général. Les lois établies ont été vérifiées aussi bien pour des suspensions colloïdales stabilisées de carbone que pour celles de saccharate d'oxyde de fer [7].

Ces caractéristiques fondamentales sont les suivantes [3] :

La disparition des particules du courant circulatoire suit une fonction exponentielle qui peut être exprimée par l'équation suivante :

$$\frac{\text{Log } C_1 - \text{Log } C_2}{T_2 - T_1} = K$$

(*) Manuscrit reçu le 20 juillet 1955.

(1) Au cours de ce travail nous avons employé indifféremment les termes phagocytose et granulopexie, nous référant par ces mots à une même fonction cellulaire.

C_1 et C_2 = concentration sanguine des particules respectivement aux temps T_1 et T_2 .

Nous avons appelé index granulopexique la constante K qui exprime la vitesse de l'épuration sanguine des particules.

La valeur de l'index granulopexique K est inversement proportionnelle à la dose de particules injectées comme le montre l'équation suivante :

$$K \times D = \text{constante}$$

K = index granulopexique,

D = quantité de particules injectées.

Si on injecte à l'animal successivement plusieurs fois la même dose de particules dès que l'épuration de la dose précédente est accomplie [3], on constate que l'index granulopexique K décroît progressivement lors de l'épuration de la dose subséquente. Il existe donc une saturation relative du pouvoir granulopexique du S. R. E. qui se traduit par une diminution de l'activité phagocytaire du fait de la prise antérieure de particules de même nature.

Chez le rat [3] et la souris [6], pour une même dose de particules, l'index granulopexique K varie en raison directe du cube du poids du foie et de la rate rapporté au poids du corps de l'animal. On sait en effet que ce sont avant tout le foie et la rate qui contiennent les cellules du S. R. E. intervenant essentiellement dans le mécanisme de la phagocytose des particules injectées par voie intraveineuse.

$$\frac{P_c}{P_o} \cdot \sqrt[3]{K} = \text{constante}$$

P_c = poids du corps,

P_o = poids des organes, foie + rate.

La valeur de cette constante que nous avons désignée par la lettre α exprime l'activité granulopexique du S. R. E. indépendamment des variations de la taille des organes. Nous avons appelé la constante α *index granulopexique corrigé*.

Au cours d'autres expériences, nous avons observé que l'injection intraveineuse de sérum chauffé à 60° ralentissait l'épuration des particules de carbone injectées en même temps. Ceci nous conduit à penser qu'il se forme dans le sérum chauffé des substances susceptibles d'être phagocytées par les cellules du S. R. E. Il est connu, depuis les travaux de van der Scheer et coll. [8], qu'en chauffant un sérum à 60° il se forme des agrégats macromoléculaires constitués par l'union des albumines et des globulines. Cette fraction albumino-globulinique présente, d'après ces auteurs, des caractères d'homogénéité, vérifiés par les méthodes d'électrophorèse et d'ultracentrifugation.

Nos recherches montrent que l'action compétitive sur la phagocytose du S. R. E., du sérum chauffé, que nous venons de signaler, doit être attribuée précisément à ce complexe.

Dans le présent travail nous allons exposer les modalités de la phagocytose du complexe albumino-globulinique, par les cellules du S. R. E. chez le rat et le lapin, en utilisant le ^{131}I fixé sur ce complexe comme traceur. Dans un deuxième groupe de recherches, nous avons étudié les modifications provoquées par l'administration du complexe albumino-globulinique, aussi bien homologue qu'hétérologue, sur la phagocytose des particules de carbone.

ETUDE EXPÉRIMENTALE.

ETUDE DE LA FIXATION DANS LE S. R. E. DE LA FRACTION DU SÉRUM DE LAPIN CHAUFFÉ A 60° ET MARQUÉ AU ^{131}I CHEZ LE RAT ET LE LAPIN. — *Technique.* — Préparation du complexe albumino-globulinique (C. A. G.) du sérum de lapin chauffé : le sérum frais de lapin normal est chauffé à 60° pendant trente minutes. Après refroidissement, le pH du sérum est amené à 6 avec du HCl N/10. Le sérum est ensuite dialysé contre de l'eau distillée pendant douze à vingt-quatre heures. Le précipité formé est recueilli par centrifugation et lavé à l'eau distillée jusqu'à ce que le surnageant ne donne plus de trouble par addition d'acide trichloracétique. Le précipité est dissous dans un volume de sérum physiologique égal à la quantité de sérum de départ en ajoutant NaOH N/10 jusqu'à pH 7,6. La solution ainsi obtenue est gardée à la glacière avec du merthiolate 1 à 5 000.

La quantité de protéines contenue dans la préparation est dosée par la méthode pondérale, après précipitation avec acide trichloracétique 20 p. 100, lavage à l'eau, à l'acétone et séchage à l'étuve jusqu'à poids constant.

MÉTHODE DE MARQUAGE DU C. A. G. AU ^{131}I . — Composition des solutions utilisées :

- a) Deux millicuries de radio-iode (0,5 à 1 ml) ;
- b) KI_3 : solution aqueuse, 0,94 M en I_2 et 1,33 M en KI ;
- c) Tampon carbonate, pH : 10.
- d) Solutions de dialyse à titre décroissant en iodure de potassium, 27,5 g/l, 14 g/l, 7 g/l.

On ajoute à la solution de radio-iode 0,5 ml de KI_3 et on laisse reposer pendant douze heures. A cette solution on ajoute 10 ml de la fraction du sérum chauffé de lapin et 5 ml de tampon au carbonate. La solution ainsi obtenue est laissée à la glacière pendant six heures en agitant toutes les heures. Ensuite la solution

est dialysée toujours à la glacière d'après la méthode suivante :

1 heure contre 1 litre de KI.	27,5 g/l
2 heures contre 1 litre de KI.	14 g/l
12 heures contre 1 litre de KI.	14 g/l
2 heures contre 1 litre de KI.	7 g/l
2 heures contre 1 litre de NaCl.	9 g/l
3 heures contre 1 litre de NaCl.	9 g/l
3 heures contre 1 litre de NaCl.	9 g/l
12 heures contre 1 litre de NaCl.	9 g/l

Après dialyse, le pH de la solution est porté à 7,4 avec NaOH.

Les dosages de la radioactivité dans la fraction protéinique iodée et dans le liquide de dialyse effectués au cours des expériences nous ont permis de constater que l'iode était lié à la protéine d'une façon stable et la quantité trouvée dans le liquide de dialyse a toujours été négligeable par rapport à celle liée à la protéine.

La fraction albumino-globulinique marquée au ^{131}I ainsi obtenue, diluée 1 à 5 dans du sérum physiologique, a été injectée par voie intraveineuse à l'animal en doses variables exprimées en millilitre de la préparation non diluée par 100 g du poids de l'animal.

MÉTHODE DE DOSAGE DU COMPLEXE ALBUMINO-GLOBULINIQUE MARQUÉ AU ^{131}I DANS LE SANG ET DANS LES ORGANES. — a) *Dosage dans le sang.* — Dans le sang le ^{131}I a été dosé par son rayonnement β , au compteur de Geiger-Müller.

Le sang a été prélevé par ponction du plexus veineux rétro-orbital chez le rat et par ponction de l'artère centrale de l'oreille chez le lapin, à des temps variables après l'injection de la protéine marquée au ^{131}I .

A chaque prélèvement une quantité de sang exactement mesurée de 0,05 ml a été régulièrement distribuée sur un disque de papier filtre de 2 cm de diamètre. On laisse sécher les disques à la température du laboratoire et on mesure le rayonnement β directement au compteur de Geiger-Müller.

Avec la même technique on dose la radio-activité de la protéine marquée au ^{131}I avant l'injection à l'animal.

b) *Dosage dans les organes.* — Dans les organes, le ^{131}I a été dosé par son rayonnement γ au compteur à scintillation. La nature pénétrante des rayonnements γ nous a permis de faire ces dosages directement sur les organes prélevés à l'animal après l'élimination totale du sang de la protéine marquée au ^{131}I . A cet effet, des sections d'organes sensiblement de même épaisseur étaient pesées et le rayonnement γ déterminé directement au compteur à scintillation ; pour les organes de petite taille comme la rate, la thyroïde et le rein chez le rat, le dosage a été fait sur l'organe entier.

L'émission du rayonnement γ de la protéine marquée au ^{131}I a été dosée directement au compteur à scintillation en plaçant un volume connu de la protéine dans une cuve en verre.

Pendant toutes les mesures du rayonnement γ les échantillons ont été placés à la même distance du tube à scintillation.

RÉSULTATS. — *Cinétique de l'épuration sanguine du C. A. G. de lapin marqué au ^{131}I .* — RAT : Dans la figure 1 sont rapportées les courbes de l'épuration sanguine du C. A. G. ^{131}I pour les doses de 0,05, 0,10, 0,20 et 0,30 ml pour 100 g. Les

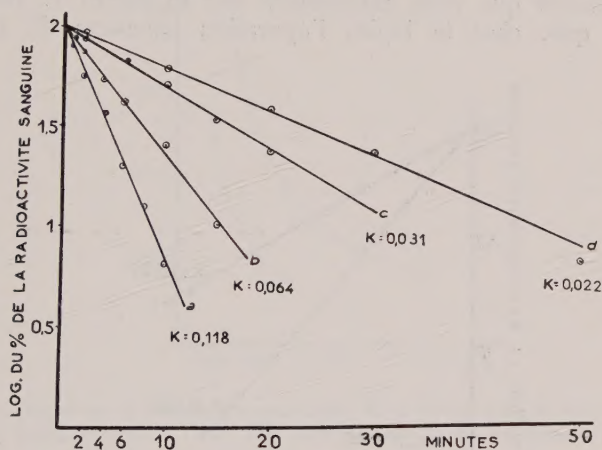


FIG. 1. — Epuration sanguine chez le rat du C. A. G. de lapin marqué à l'iode ^{131}I pour les doses de : a) 0,05 ml pour 100 g ; b) 0,10 ml pour 100 g ; c) 0,20 ml pour 100 g ; d) 0,30 ml pour 100 g.

résultats sont exprimés comme moyenne des observations en posant en ordonnée le logarithme du pourcentage dans le sang de la quantité de radio-activité injectée, et en abscisse les temps de prélèvement sanguin après l'injection. Le pourcentage a été calculé par rapport au nombre de coups/minute extrapolé au temps 0 à l'aide d'une représentation semi-logarithmique des coups/minute par rapport au temps. Les résultats exprimés dans la figure 1 montrent que, pour toutes les doses étudiées, l'élimination du C. A. G. ^{131}I est représentée par une droite, ce qui indique que l'épuration du produit injecté se fait suivant une fonction exponentielle par rapport au temps. Cela nous a permis également de calculer la masse sanguine de l'animal, ayant mesuré préalablement la radio-activité du C. A. G. ^{131}I injecté.

L'index granulopexique K calculé pour chaque dose d'après la formule précédemment exposée est inscrit sur la figure 1. Les

valeurs numériques de l'index K qui expriment la cinétique de l'épuration sanguine sont d'autant plus grandes que la quantité du C. A. G. ^{131}I injectée est plus faible.

La valeur de la masse sanguine calculée dans chaque groupe de rats injectés avec les différentes doses a varié entre 7 et 8,3 ml pour 100 g ; la valeur moyenne est de 7,8 ml pour 100 g.

LAPIN : Dans la figure 2 sont représentées les courbes d'élimination du C. A. G. ^{131}I pour des doses de 0,05 ml et 0,1 ml pour 100 g de poids de l'animal. Les résultats sont exprimés de la même manière que ceux représentés sur la figure 1. On peut constater que, chez le lapin, l'épuration sanguine du produit

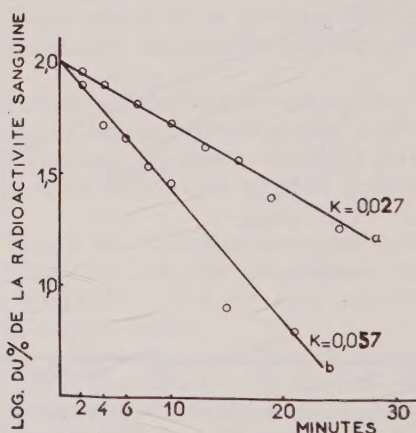


FIG. 2. — Épuration sanguine chez le lapin du C. A. G. de lapin marqué à l'iode ^{131}I pour les doses de : a) 0,10 ml pour 100 g ; b) 0,05 ml pour 100 g.

injecté se fait suivant une fonction exponentielle par rapport au temps, et que la valeur de l'index granulopexique K dépend étroitement de la quantité de C. A. G. ^{131}I injectée.

La valeur de la masse sanguine calculée pour les deux doses injectées a été respectivement de 5,3 et 6,1 ml pour 100 g.

Les variations de l'index K par rapport à la dose de C. A. G. ^{131}I injectée ont été représentées dans la figure 3 pour le rat et pour le lapin. En portant en ordonnée l'index K et en abscisse la dose du produit iodé injecté, on constate que les valeurs expérimentales pour les deux espèces animales se rapprochent d'une hyperbole équilatère, ce qui montre que le produit de la valeur de $K \times D$ est une constante. Les courbes sont tracées d'après la valeur moyenne de la constante $K.D$ pour chaque espèce animale étudiée.

Distribution dans les organes du C. A. G. ^{131}I chez le rat et le lapin. — Dans le tableau I sont rapportées les valeurs indiquant la distribution dans les organes du C. A. G. iodé pour les différentes doses étudiées chez le rat.

Les résultats reportés sur le tableau I font ressortir que le pourcentage total de la radioactivité des organes, ainsi que le

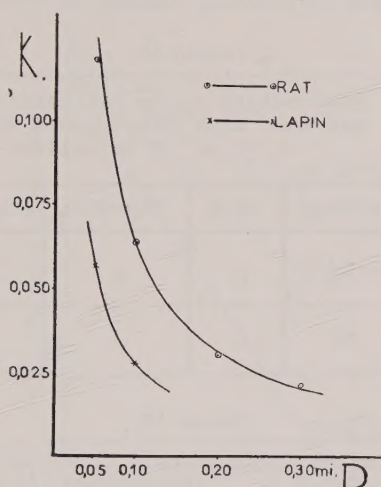


FIG. 3. — Variation de l'index granulopexique K en fonction de la dose de C. A. G. de lapin, marqué à l'iode ^{131}I , injectée chez le rat et chez le lapin.

pourcentage de la radioactivité du foie décroissent légèrement pour les doses plus fortes, tandis que le pourcentage de radioactivité de la rate s'accroît avec la dose de C. A. G. injectée. Pour les autres organes, seuls le poumon et le rein manifestent une minime radioactivité pour la dose la plus élevée de C. A. G. iodé.

TABLEAU I.

Dose de C.A.G. iodé injecté en ml % g	Poids des organes en g/100 g de poids du corps		Pourcentage de la radioactivité injectée, retrouvé dans les organes					
	Foie	Rate	Foie	Rate	Poumon	Rein	Thyroïde	Total
0,05	3,90	0,320	89	0	0	0	0	89
0,10	3,54	0,294	84	1,5	0	0	0	85,5
0,20	4,05	0,570	83	1,9	0	0,1	0	84,9
0,30	3,46	0,300	75	2,8	0,2	0,2	0	78

La localisation du C. A. G. ^{131}I dans les organes rapportée dans le tableau I n'est obtenue que lorsque les organes ont été prélevés, pour le dosage de la radioactivité, dès que la substance iodée a complètement disparu de la circulation.

Si on dose dans les organes le ^{131}I quarante-huit heures après l'injection du C. A. G. ^{131}I , on s'aperçoit qu'il y a eu un déplacement de ^{131}I dans l'organisme, comme le montre le tableau II.

TABLEAU II.

Dose du C.A.G. ^{131}I injectée en ml % g	Pourcentage de la radioactivité injectée, retrouvé dans les organes 48 heures après l'injection				
	Foie	Rate	Thyroïde	Poumon	Rein
0,05	8	0	6	0	0
0,30	50	0	3	0	0

TABLEAU III.

Dose du C.A.G. iodé injectée en ml % g	Poids des organes		Pourcentage de la radioactivité injectée, retrouvé dans les organes						
	Foie g	Rate g	Foie	Rate	Rein	Thy- roïde	Poumon	Bile	Total
0,05	93	1,9	68	4,9	1,5	0	0	0	74,5
0,10	96	2,4	81	6,6	1,4	0	0	0	89

Dans le tableau III sont rapportées les valeurs indiquant la distribution dans les organes du C. A. G. iodé pour les deux doses étudiées chez le lapin après la disparition du C. A. G. iodé de la circulation.

Chez le lapin comme chez le rat la quasi-totalité de la radioactivité est accumulée par le foie et la rate.

Cinétique de l'épuration sanguine du C. A. G. ^{131}I après injections répétées chez le rat. — Dans la figure 4 sont représentées les courbes d'élimination et la valeur de l'index K pour la dose de 0,10 ml pour 100 g de C. A. G. iodé répétée quatre fois. L'injection suivante a été faite lorsque l'épuration du sang de la dose précédente était presque complète.

Ces résultats suggèrent qu'un phénomène de saturation relative du pouvoir phagocytaire du S. R. E. s'établit à la suite de la fixation de cette substance par les cellules.

ETUDE DE L'EFFET COMPÉTITIF DU C. A. G. NON IODÉ SUR LA PHAGOCYTOSE DU MÊME PRODUIT IODÉ PAR LES CELLULES DU S. R. E. — Pour établir si la fixation de l'iode sur le C. A. G. avait modifié la façon dont ce produit était phagocyté par les cellules du S. R. E., nous avons étudié la cinétique de l'épuration du C. A. G. iodé et marqué au ^{131}I dilué soit dans du sérum physio-

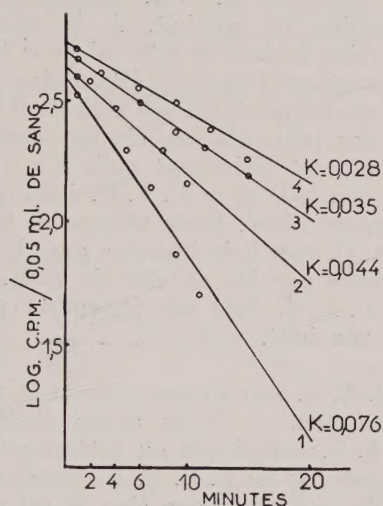


FIG. 4. — Epuration sanguine chez le rat de doses consécutives de 0,10 ml de C. A. G. de lapin marqué à l'iode 131.

logique, soit dans du C. A. G. non iodé. Nous avons représenté ces résultats dans le tableau IV.

Les résultats présentés montrent que la valeur de l'index K

TABLEAU IV.

Dose de C.A.G. iodé injectée ml % g	Dilution 1 à 5 dans :	Index Granulopexique K
0,10	Sérum physiologique	0,067
	C.A.G. non iodé	0,064
0,20	Sérum physiologique	0,031
	C.A.G. non iodé	0,031

pour une même dose de C. A. G. iodé ne varie pas si le produit est dilué dans du sérum physiologique ou dans du C. A. G. non iodé.

Des résultats analogues ont été obtenus par une technique différente :

On a établi chez le rat l'index granulopexique pour une dose de 0,20 ml pour 100 g de C. A. G. iodé dans les dix minutes qui suivent l'injection du produit. A la dixième minute on a injecté dans la veine la dose de 0,80 ml pour 100 g de C. A. G. non iodé et on a continué l'étude de l'épuration du C. A. G. iodé du sang. L'index granulopexique, qui était de 0,030 avant l'injection du C. A. G. non iodé, n'a pas changé après cette injection.

Ces résultats montrent clairement qu'il n'y a pas compétition entre le C. A. G. non iodé et le C. A. G. iodé quant à l'élimination du sang du produit iodé. Reste néanmoins le fait que l'administration du C. A. G. non iodé interfère avec la phagocytose des particules de carbone par les cellules du S. R. E. ; on peut en conclure que le C. A. G. iodé est phagocyté préférentiellement au même produit non iodé.

INFLUENCE DU C. A. G. SUR LA PHAGOCYTOSE PAR LE S. R. E. DES PARTICULES DE CARBONE. — Nous avons étudié l'influence de l'injection de C. A. G. homologue ou hétérologue sur la fonction phagocytaire des cellules du S. R. E. à l'égard d'une suspension colloïdale de particules de carbone chez le rat et la souris.

TECHNIQUE. — L'expérimentation a porté sur des rats et des souris de souche sélectionnée. Les rats pesaient 125 ± 25 g et les souris 20 ± 4 g. Le C. A. G. a été préparé à partir du sérum normal de lapin et de rat suivant la technique préalablement décrite. La fonction granulopexique a été étudiée à l'aide de la suspension colloïdale de carbone C.11/1431 a Gunther Wagner ; la dose de carbone injectée a été de 8 mg pour 100 g chez le rat et 16 mg pour 100 g chez la souris. Nous avons mesuré l'épuration sanguine des particules de carbone et déterminé avec les techniques décrites dans nos précédents travaux [3, 6] l'index granulopexique K, l'index granulopexique corrigé α , le rapport du poids du corps sur les poids des organes Pc/Po à des temps variables après l'injection intraveineuse d'une ou de plusieurs doses de C. A. G. homologue ou hétérologue et de sérum normal.

RÉSULTATS. — *Action du sérum normal et du C. A. G. de lapin injectés en cours d'élimination des particules de carbone.* — La figure 5 représente les effets de l'injection intraveineuse de 13 mg pour 100 g de C. A. G. préparé à partir du sérum de lapin sur la cinétique de l'épuration sanguine d'une dose de 16 mg de

carbone pour 100 g chez le rat. L'injection du C. A. G. a été faite à la quinzième minute après l'injection de la suspension de carbone.

L'index granulopexique K qui avant l'injection du C. A. G. était de 0,019 s'abaisse à 0,007 après cette injection.

Des expériences identiques réalisées avec des quantités équivalentes de sérum normal de lapin injectées dans les mêmes conditions montrent l'absence de toute action du sérum sur l'index granulopexique.

Cela montre que les particules du C. A. G. injectées par voie

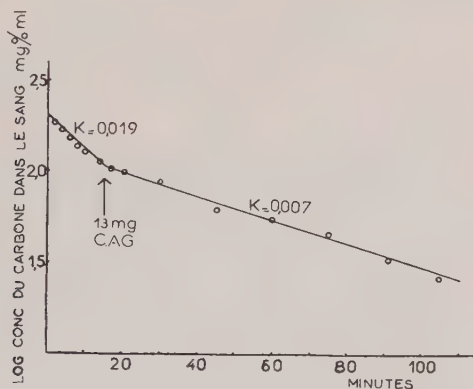


FIG. 5. — Modification de la cinétique de l'épuration d'une dose de 16 mg de carbone pour 100 g chez le rat par l'injection en cours d'expérience de 13 mg de C. A. G. de lapin.

intraveineuse chez le rat exercent un effet compétitif sur la fixation des particules de carbone par les cellules du S. R. E.

Action d'une injection intraveineuse unique de C. A. G. ou de sérum normal homologue ou hétérologue sur l'activité granulopexique du S. R. E. envers les particules de carbone. — Pour étudier l'action compétitive du C. A. G. sur la phagocytose des particules de carbone, nous avons injecté dans la veine à des groupes de rats une dose de 37 mg pour 100 g de C. A. G. préparé à partir du sérum de lapin et une dose de 35 mg pour 100 g de C. A. G. préparé à partir de sérum de rat. D'autres groupes de rats ont été injectés avec une dose correspondante de sérum normal de rat ou de lapin. Dix minutes après l'injection de ces substances nous avons administré une dose de carbone de 8 mg pour 100 g et nous avons déterminé, pour le carbone, l'index granulopexique K , l'index granulopexique corrigé α et le rapport Pc/Po .

Dans le tableau V nous rapportons les valeurs moyennes obtenues dans chaque groupe de rats ainsi que celles d'un groupe de rats témoins. Pour ces derniers on a établi la déviation standard.

TABLEAU V.

Substance injectée	Dose injectée	Dose de carbone de 8 mg % g		
		K	α	Pc/Po
C.A.G. de sérum de lapin	37 mg % g	0,011	4	18
C.A.G. du sérum de rat	35 mg % g	0,011	3,9	17,8
Sérum normal de rat	1 ml % g	0,042	5,9	17
Sérum normal de lapin	1,ml % g	0,039	6	17,7
Témoins	sans traitement	0,035 \pm 0,007	6,1 \pm 0,37	18,8 \pm 1,25

Les résultats présentés montrent que l'injection du C. A. G. homologue ou hétérologue injecté à l'animal dix minutes avant la suspension de carbone provoque une nette diminution de l'index granulopexique K et de l'index granulopexique corrigé α , alors que le rapport Pc/Po n'est pas modifié. Par contre, l'injection d'une quantité correspondante de sérum normal de rat et de lapin ne provoque pas de variations significatives des mêmes index.

Pour établir la durée du ralentissement de l'activité granulopexique du S. R. E. provoquée par l'injection de C. A. G., nous avons déterminé à des temps variables après injection intraveineuse de 37 mg pour 100 g de C. A. G. de lapin, l'index granulopexique K, l'index granulopexique corrigé α , ainsi que le rapport Pc/Po pour la dose de carbone de 8 mg pour 100 g.

Dans la figure 6 sont rapportées les moyennes de ces valeurs pour des temps compris entre dix minutes et vingt-quatre heures à partir de l'injection du C. A. G., par rapport aux valeurs des mêmes index établies chez un groupe de rats témoins et représentés au temps 0.

A l'examen des résultats on observe que le ralentissement de l'index K et de l'index corrigé α , provoqué par l'injection de cette dose de C. A. G., est de courte durée. Deux heures après l'injection les valeurs sont revenues à la normale. Il est à remarquer que dans les heures qui suivent on observe une augmentation significative des valeurs de K et d' α qui persistent encore vingt-quatre heures après. Dans ces expériences le rapport Pc/Po n'a pas varié sensiblement.

Action des injections intraveineuses répétées de C. A. G. homologue et hétérologue et de sérum normal de lapin sur l'activité granulopexique du S. R. E. à l'égard des particules de carbone. — L'observation de l'accroissement de l'activité phagocytaire plusieurs heures après une injection intraveineuse unique de C. A. G. nous a amenés à étudier l'effet des injections répétées de C. A. G. sur l'activité granulopexique du S. R. E. Dans ce but nous avons pratiqué chez un groupe de rats des injections répétées de C. A. G. isolé du sérum de lapin. Les rats ont été injectés avec 37 mg

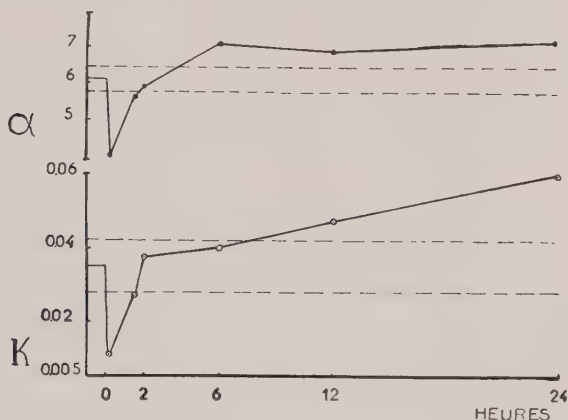


FIG. 6. — Variations de l'index phagocytaire K et de l'index corrigé α pour la dose de 8 mg de carbone pour 100 g chez le rat dans les heures qui suivent l'injection de 37 mg de C. A. G. de lapin. Les lignes pointillées indiquent les limites de la variation standard chez les animaux témoins.

pour 100 g de C. A. G. deux fois par jour pendant deux jours, le troisième jour, ils ont reçu une unique injection de 74 mg pour 100 g. A des temps de un, deux, quatre et six jours après la dernière injection de C. A. G., nous avons établi les index K et α et le rapport Pc/Po pour la dose de carbone de 8 mg pour 100 g.

Dans la figure 7 sont présentés les résultats de cette expérience. Les valeurs de K, α et Pc/Po sont reportées comme moyenne des observations par rapport aux chiffres des mêmes index établis chez un groupe de rats témoins et rapportés au temps 0.

On remarque que l'index granulopexique K augmente considérablement ; il atteint son maximum quarante-huit heures après la dernière injection de C. A. G. et reste encore au-dessus du niveau normal six jours après l'arrêt du traitement.

Quant aux valeurs de l'index granulopexique corrigé α , elles suivent celles du K mais elles reviennent au sixième jour à des chiffres proches de la limite supérieure de la variation standard.

L'étude du rapport Pc/Po indique que le traitement provoque une augmentation considérable du poids du foie et de la rate. En effet, le poids moyen de ces organes pour 100 g de poids du corps qui est de 5,300 g chez les témoins ($Pc/Po = 18,8$) s'élève

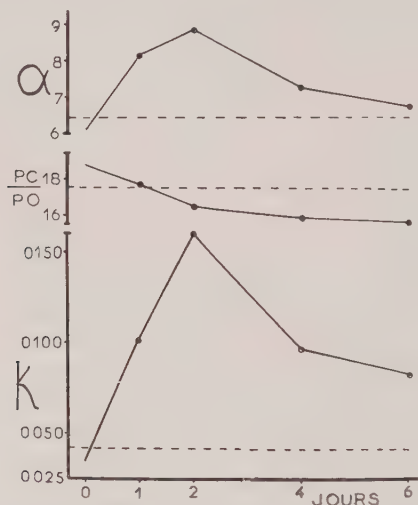


FIG. 7. — Effet d'injections multiples de C. A. G. de lapin (cinq injections de 37 mg en trois jours) sur le poids relatif du foie et de la rate Pc/Po et sur l'activité phagocytaire, chez le rat, mesurée par les index K et α pour la dose de 8 mg de carbone pour 100 g dans les jours qui suivent le traitement. La ligne pointillée indique la limite de la variation standard de chaque index chez les animaux témoins.

à 6,400 g le sixième jour après le traitement ($Pc/Po = 15,7$), soit une augmentation d'environ 20 p. 100.

Ces résultats montrent clairement que les injections répétées de C. A. G. déterminent une stimulation de l'activité phagocytaire du S. R. E. ainsi qu'une hypertrophie du foie et de la rate. Cette augmentation du poids des organes ne justifie pas par elle-même l'accroissement de l'activité phagocytaire. En effet, l'activité par unité de poids est augmentée dans une première phase. Ultérieurement, on observe que l'activité par unité de poids d'organe (index α) revient vers la normale alors que l'index K reste nettement augmenté du fait que les organes participant à la phagocytose demeurent hypertrophiés.

Des résultats analogues ont été observés chez un lot de souris

ayant reçu pendant trois jours consécutifs une injection intraveineuse de 6,5 mg pour 20 g de C. A. G. préparé à partir du sérum de lapin. Les index granulopexiques K et α pour la dose de carbone de 16 mg pour 100 g ainsi que le rapport Pc/Po ont été établis vingt-quatre heures et six jours après la dernière injection de C. A. G. Les résultats sont résumés dans le tableau VI.

TABLEAU VI.

	K	α	Pc/Po
C.A.G. après 1 jour	0,047	5	13,9
C.A.G. après 6 jours	0,048	5	13,8
Témoins	0,026 \pm 10	4,6 \pm 0,4	15,9 \pm 1,9

L'augmentation de l'index K chez la souris, bien que significative, est moins importante que celle obtenue chez le rat. Les organes des animaux traités présentent une hypertrophie relative et les valeurs de Pc/Po sont à la limite supérieure de la variation standard. Cette légère augmentation du poids des organes est déjà évidente vingt-quatre heures après la dernière injection. Il en est de même de l'index α qui exprime l'activité granulopexique par unité de poids des organes actifs.

Le fait est donc bien établi que les injections répétées de C. A. G. d'origine hétérologue augmentent l'activité granulopexique des cellules du S. R. E.

Nous nous devons de compléter ces recherches en étudiant l'action des injections répétées de sérum normal de lapin et de C. A. G. homologue chez le rat :

Nous avons administré à un groupe de rats, du sérum normal de lapin à la dose de 1 cm³ pour 100 g deux fois par jour pendant deux jours et 2 cm³ pour 100 g le troisième jour.

Le groupe de rats traités avec du C. A. G. homologue a reçu une série identique d'injections de C. A. G. préparé à partir du sérum de rat, contenant 35 mg par millilitre.

Après des temps variables on a mesuré l'index K, l'index α et le rapport Pc/Po pour la dose de carbone de 8 mg pour 100 g. Dans le tableau VII sont rapportés les résultats de cette expérience. Dans le même tableau sont rapportés également les résultats du traitement multiple avec des doses semblables de C. A. G. hétérologue qui figurent dans la figure 7, ainsi que les index obtenus chez un groupe de rats témoins et leur déviation standard.

Les résultats montrent que l'injection répétée de C. A. G. homo-

logue a produit une légère augmentation de l'index K après quarante-huit heures de traitement, les valeurs de l'index α et du rapport Pc/Po ne présentant pas de variations significatives par rapport aux témoins. On doit conclure que l'action stimulatrice du C. A. G. homologue est donc faible et que parallèlement

TABLEAU VII.

Substance injectée	Nombre d'injections en 3 jours	Quantité injectée chaque fois en ml % g	Après 1 jour			Après 2 jours			Après 4 jours		
			K	α	Pc/Po	K	α	Pc/Po	K	α	Pc/Po
C.A.G. de lapin 37 mg/ml	5	1	0,102	8,2	17,7	0,160	8,9	16,4	0,097	7,3	15,9
C.A.G. de rat 35 mg/ml	5	1				0,052	6,3	17,3			
Sérum normal de lapin	5	1	0,057	6,7	17,6	0,059	6,6	17,1	0,048	6,3	18,2
Rats témoins K = 0,035 \pm 0,007 α = 6,1 \pm 0,4 Pc/Po = 18,8 \pm 1,25											

l'hypertrophie des organes est pratiquement nulle. Ces effets contrastent avec le pouvoir stimulant du C. A. G. hétérologue.

L'injection répétée de sérum normal de lapin produit également une légère augmentation de l'index K, mais les valeurs de l'index α et du rapport Pc/Po ne présentent pas de variations significatives par rapport aux rats témoins.

DISCUSSION.

L'étude de la cinétique d'élimination sanguine du C. A. G. iodé injecté dans la veine chez le rat et le lapin montre que cette substance est épurée du sang suivant les mêmes modalités déjà établies pour d'autres suspensions colloïdales comme le carbone ou le saccharate d'oxyde de fer. Dans ce cas également la cinétique de l'épuration du C. A. G. iodé se fait suivant une fonction exponentielle par rapport au temps, et la pente de la courbe d'élimination exprimée par l'index K est inversement proportionnelle à la dose de C. A. G. iodé injectée.

Ainsi le produit de la dose et de l'index K qui en représente l'élimination sanguine est une valeur constante. Cette relation fondamentale et caractéristique pour les substances fixées par les cellules du S. R. E. a été démontrée jusqu'à maintenant pour les particules inertes et s'applique d'après les résultats rapportés également aux particules des colloïdes sanguins modifiés.

L'étude de la répartition dans les organes du C. A. G. iodé, après disparition complète de la circulation, montre que la quasi totalité du produit est fixée par le foie et la rate. La quantité fixée par les autres organes se limite à des traces, lorsqu'il y en a. Le pourcentage du C. A. G. iodé contenu dans la rate est d'autant plus grand que la dose de produit injectée est élevée. Ce phénomène observé avec d'autres colloïdes pourrait s'expliquer par le fait que la quantité de sang qui passe par la rate dans l'unité de temps est beaucoup plus faible que celle qui traverse le foie. La plus longue persistance dans la circulation du C. A. G. iodé lors de l'injection des doses plus élevées explique l'augmentation du pourcentage du produit retrouvé dans la rate. Contrairement aux particules de carbone qui persistent dans les cellules du S. R. E. pendant une longue période, le C. A. G. est probablement métabolisé par ces cellules, comme le montre le déplacement du ^{131}I dans l'organisme chez les animaux tués quarante-huit heures après l'injection de C. A. G. iodé (tableau II).

Bien que nous n'ayons pas encore la preuve histologique de la fixation du C. A. G. iodé par les cellules du S. R. E., on est en droit de présumer, sur la base de la cinétique de l'épuration sanguine et de la répartition dans les organes de ce produit, qu'il est bien fixé par les cellules du S. R. E. En effet, les modalités de son épuration sanguine et de sa répartition dans les organes sont identiques à celles des autres colloïdes étudiés.

Un argument supplémentaire en faveur de cette conception est fourni par l'interférence et la compétition que montre le C. A. G. à l'égard de la phagocytose des particules de carbone.

Le C. A. G. iodé injecté dans la circulation semble se comporter comme un colloïde stable, ainsi que le prouvent d'une part la régularité logarithmique de son épuration pour toutes les doses, et d'autre part la possibilité de calculer par extrapolation la masse sanguine correctement.

Grâce à ces caractéristiques jointes au manque de toxicité et à la facilité de dosage, nous possédons dans le C. A. G. marqué au ^{131}I un produit d'un intérêt particulier pour l'étude de l'activité phagocytaire du S. R. E. Des études sont actuellement en cours pour appliquer cette méthode chez l'homme.

Comme dans le cas du carbone, les injections répétées de C. A. G. iodé déterminent des phénomènes de saturation relative à l'égard des particules de la même substance (fig. 4).

Un fait particulièrement intéressant est apparu au cours de ces expériences : c'est la différence de comportement de la cellule réticulo-endothéliale à l'égard du C. A. G. iodé ou non iodé. Il est certain que les deux formes de C. A. G. sont phagocytées par les cellules du S. R. E. chez l'animal normal. L'une et l'autre forme du C. A. G. interfèrent avec la phagocytose des particules de

carbone par le S. R. E. dans le même sens. Cependant, le produit non iodé ne modifie en aucune façon l'épuration sanguine du C. A. G. iodé injecté simultanément. Ceci nous amène à considérer que, lorsque les deux produits sont offerts simultanément à la cellule, celle-ci fixe le produit iodé comme si le C. A. G. non iodé n'était pas présent.

L'iode fixé sur le C. A. G. modifie considérablement le comportement de la cellule phagocytaire envers cette protéine.

La méthode d'iodination du C. A. G. employée dans nos expériences cause une fixation considérable d'iode sur le C. A. G. Il est probable que la quantité d'iode fixée joue un rôle dans la phagocytose du produit, et des expériences sont actuellement en cours pour éclaircir cette question.

L'existence des phénomènes de fixation préférentielle pour des particules phagocytées par le S. R. E. nous semble particulièrement intéressante, car elle permet d'étudier les facteurs qui conditionnent l'avidité des cellules du S. R. E. pour des particules de nature chimico-physique différente.

L'existence des phénomènes de phagocytose préférentielle nous oblige d'envisager sous un autre angle le problème de la saturation des cellules du S. R. E. par l'injection de suspensions colloïdales. Ces expériences permettent aussi d'interpréter les résultats souvent contradictoires observés par les auteurs qui ont étudié le « blocage du S. R. E. » par l'injection de substances colloïdales de nature différente.

Les résultats de nos expériences permettent d'expliquer les données récemment publiées par Frimmer [9]. Cet auteur a observé que l'injection de sérum déspecifié provoque chez le chien une diminution de la prise des particules de polymétaphosphate de Na et K par les cellules du S. R. E. Il est très vraisemblable qu'au cours du processus de déspecification se forment des complexes protéiniques susceptibles d'être phagocytés par les cellules du S. R. E. comme l'est le C. A. G.

Nous avons vu plus haut que l'effet compétitif exercé par le C. A. G. sur la granulopexie des particules de carbone est de même intensité, que le produit soit homologue ou hétérologue ; cela indique que, dans les deux cas, les particules de C. A. G. sont fixées par les cellules du S. R. E. de la même façon. L'action stimulatrice exercée par des injections répétées de C. A. G. sur l'activité phagocytaire ainsi que sur la taille des organes nous permet d'avancer l'hypothèse suivante : les particules de C. A. G. hétérologues prises par les cellules du S. R. E. produisent une multiplication de ces cellules qui entraîne par la suite une multiplication des cellules hépatiques jusqu'à ce que le rapport entre les cellules du S. R. E. et les cellules épithéliales soit revenu

à sa valeur initiale. Cette hypothèse est actuellement soumise à la vérification expérimentale.

Il y a lieu d'opposer l'action stimulatrice remarquable du C. A. G. hétérologue aussi bien sur la phagocytose que sur l'hypertrophie des organes, à l'effet relativement faible du C. A. G. homologue préparé de la même manière. Il n'est pas interdit de penser que le C. A. G. hétérologue agit en dehors de ses qualités physiques par son pouvoir antigénique possible. Cependant cette action stimulante du C. A. G. hétérologue n'est pas en rapport uniquement avec la nature antigénique de la substance injectée, car les résultats obtenus avec l'injection répétée de sérum normal de lapin chez le rat (fig. 6) ne montrent qu'une très légère augmentation de l'index K. C'est donc à la fois la nature chimico-physique du produit injecté et son origine qui déterminent l'action stimulatrice importante du C. A. G. hétérologue sur le S. R. E.

Il se pourrait également que la dispersion et la taille micellaire des particules du C. A. G. jouent un rôle dans l'effet stimulant de ce produit sur les cellules du S. R. E., et que ces caractéristiques physiques ne soient pas les mêmes dans le C. A. G. de rat et de lapin.

CONCLUSIONS.

En appliquant les méthodes d'exploration de l'activité phagocytaire du S. R. E. antérieurement décrites à l'étude d'une nouvelle substance colloïdale que nous appelons complexe albuminoglobulinique (C. A. G.) obtenue à partir du sérum chauffé, nous avons fait les constatations suivantes :

1° Le C. A. G. d'origine homologue ou hétérologue est phagocyté par les cellules du S. R. E.

2° Le marquage à l'Iode 131 du C. A. G. nous a permis d'établir que le produit ainsi marqué est phagocyté par le S. R. E. suivant les mêmes lois que celles déjà établies pour d'autres suspensions colloïdales : carbone et saccharate d'oxyde de fer.

3° L'injection de C. A. G. hétérologue produit un effet de saturation relative du S. R. E. à l'égard de la même substance (démonstré pour le C. A. G. iodé), et interfère avec la phagocytose des granules de carbone (démonstré pour le C. A. G. non iodé).

4° Lors de l'injection simultanée de C. A. G. iodé et non iodé, la courbe de l'épuration du C. A. G. iodé n'est pas affectée par la présence du C. A. G. non iodé.

5° L'injection de C. A. G. hétérologue ou homologue détermine un ralentissement transitoire de l'épuration des particules de carbone du sang, ce qui indique un effet de compétition entre les deux colloïdes.

6° Dans une deuxième phase, au contraire, on observe à la suite d'une injection unique ou d'injections répétées de C. A. G. hété-

rologue, une augmentation importante du pouvoir phagocytaire du S. R. E., ainsi qu'une augmentation du poids du foie et de la rate.

7° Le C. A. G. homologue ainsi que le sérum normal hétérologue ne sont doués que d'une activité stimulatrice réduite.

SUMMARY.

The application of methods, previously described, for the examination of the phagocytic activity of the R. E. S., to the study of a new colloidal substance-albumino-globulinic complex (A. G. C.) obtained by the heating of serum, has led to the establishment of the following facts :

1° A. G. C. whether of homologous or heterologous origin is phagocytized by cells of the R. E. S.

2° The marking of A. G. C. with I^{131} has indicated that the A. G. C. is phagocytized by the R. E. S. following the same laws already established for other colloidal suspensions : carbon and iron oxide saccharate.

3° The injection of heterologous A. G. C. produces an effect of relative saturation of the R. E. S. with respect to the same substance (demonstrated for iodized A. G. C.), and interferes with the phagocytosis of carbon particles (demonstrated for non-iodized A. G. C.).

BIBLIOGRAPHIE

- [1] B. N. HALPERN, G. BIOZZI, G. MENE et B. BENACERRAF. *Ces Annales*, 1951, **80**, 582.
- [2] B. N. HALPERN, B. BENACERRAF et G. BIOZZI. *Brit. J. exp. Path.*, 1953, **34**, 426.
- [3] G. BIOZZI, B. BENACERRAF et B. N. HALPERN. *Brit. J. exp. Path.*, 1953, **34**, 441.
- [4] B. N. HALPERN, C. STIFFEL, G. BIOZZI et B. BENACERRAF. *C. R. Soc. Biol.*, 1954, **148**, 240.
- [5] C. STIFFEL, B. BENACERRAF, G. BIOZZI et B. N. HALPERN. *C. R. Soc. Biol.*, 1954, **148**, 318.
- [6] G. BIOZZI, B. BENACERRAF, C. STIFFEL et B. N. HALPERN. *C. R. Soc. Biol.*, 1954, **148**, 431.
- [7] B. BENACERRAF, C. STIFFEL, G. BIOZZI et B. N. HALPERN. *C. R. Soc. Biol.*, 1954, **148**, 486.
- [8] J. VAN DER SCHEER, R. W. WYCKOFF et F. L. CLARK. *J. Immunol.*, 1941, **40**, 39.
- [9] M. FRIMMER. *Arch. exper. Path.*, 1953, **218**, 320.

**INFLUENCE DE QUELQUES FACTEURS
PHYSICO-CHIMIQUES
SUR LES RÉACTIONS SÉROLOGIQUES DE LA SYPHILIS
CAS DE LA RÉACTION DE KLINE (*)**

par R. PAUTRIZEL, F. SZERSNOVICZ et M. FAURE (**).

*(Faculté de Médecine et de Pharmacie de Bordeaux
et Institut Pasteur)*

Parmi les anticorps dont la recherche et l'identification dans le sang ou les humeurs sont à la base du diagnostic sérologique de la syphilis, celui dénommé « réagine syphilitique » est le plus anciennement et le plus classiquement connu. Pour le détecter, les tests, en apparence les plus variés, ont été décrits, mais tous consistent à mettre en évidence la formation du même complexe antigène-anticorps, par l'une ou l'autre de ses propriétés immunologiques : fixation du complément d'une part, précipitation ou micro-agglutination d'autre part.

Pour certains, ces deux groupes de réactions détecteraient des anticorps différents [4, 10], pour d'autres, encore influencés par la théorie du déséquilibre plasmatique dû à l'infection, ces réactions seraient très différentes et il y aurait intérêt à multiplier et à utiliser pour les sérums suspects toute une « batterie » de tests sérologiques.

Cette conception n'est plus défendable depuis que les travaux de Pangborn [6, 7, 8, 9] ont permis d'obtenir une fraction antigénique purifiée, le cardiolipide, qui est l'élément spécifique de base des différents « réactifs antigéniques ». De plus, les traitements antisypilitiques par les antibiotiques ont apporté une nouvelle preuve du fondement immunologique de cette exploration sérologique.

Le biologiste doit donc choisir dans l'important « clavier séro-

(*) Travail réalisé avec l'aide de la Caisse Nationale de la Sécurité Sociale et de l'Institut National d'Hygiène (professeur Bugnard).

(**) Manuscrit reçu le 1^{er} août 1955.

logique » les réactions qui tiennent le mieux compte des règles immunologiques et qui sont le plus à l'abri des facteurs aspécifiques interférant avec le phénomène immunologique. Il est exceptionnel que les résultats fournis par plusieurs de ces tests soient contradictoires. Nous allons montrer que des dissociations entre les résultats ne doivent inquiéter ni les syphiligraphes ni les sérologistes. Elles ne sont dues qu'à une différence d'intensité dans la réponse des divers tests, intensité liée elle-même à leur sensibilité. Il n'est d'ailleurs point besoin d'envisager plusieurs réactions, ni plusieurs réactifs pour les obtenir. Il suffit de modifier les conditions d'exécution habituellement requises pour un même test, pour en exalter ou en inhiber la réponse.

C'est une étude de quelques-uns des facteurs interférant avec la réaction réagine syphilitique-cardiolipide que nous rapportons.

TECHNIQUE UTILISÉE.

Pour réaliser cette étude, nous avons choisi la réaction de Kline standard, réaction de micro-agglutination sur lame, d'exécution si facile qu'elle nous a permis d'entreprendre un très grand nombre d'examen comparatifs. Le réactif antigénique utilisé est une suspension de microcristaux de cholestérol stabilisés par une lécithine et à la surface desquels sont réparties les molécules du cardiolipide. La réaction qui met en présence le sérum syphilitique chauffé une demi-heure à 56° et la suspension antigénique donne une agglutination par accolement antigène-anticorps.

Réaction de Kline standard :

RÉACTIF ANTIGÉNIQUE : solution alcoolique de cardiolipide, 0,2 p. 100 et lécithine, 1,5 p. 100.

PRÉPARATION DE LA SUSPENSION ANTIGÉNIQUE :

Premier temps : Préparation de la suspension de cholestérol.

Mettre 0,85 cm³ d'eau distillée dans un flacon émeri ;

Ajouter goutte à goutte 0,9 cm³ d'une solution alcoolique de cholestérol à 1 p. 100 en agitant le flacon d'un mouvement circulaire.

Deuxième temps : Addition de l'antigène et de l'eau physiologique.

Ajouter 0,1 cm³ de solution antigénique. Boucher le flacon et agiter énergiquement une minute.

Ajouter 2,45 cm³ d'eau physiologique et agiter modérément trente secondes.

Laisser le flacon dix minutes à la température du laboratoire.

Exécution de la réaction :

Placer dans une cellule de la lame de verre 1/20 de centimètre cube de sérum et 1/60 de centimètre cube de suspension antigénique.

Agiter pendant quatre minutes avec un agitateur de Kline (mou-

vement circulaire de 5 cm environ de diamètre, à la cadence de 120 tours par minute).

Lecture :

Lire au microscope avec grossissement de 100 environ.

Réaction négative : Microcristaux de cholestérol répartis uniformément.

Réaction positive : Microcristaux agglutinés. Suivant la grosseur des amas, on note : +, ++, +++, +++++.

INFLUENCE DU MODE DE PRÉPARATION DE LA SUSPENSION.

Une modification de la réaction de Kline standard (1) consiste à faire subir à la suspension antigénique un chauffage à 56° pendant dix minutes, puis une centrifugation permettant d'éliminer les particules les plus fines susceptibles de saturer sans agglutination visible une partie des anticorps. Les réactions qualitatives exécutées simultanément sur 3037 sérums avec la suspension de Kline standard et avec la suspension de Kline « exclusion » ont donné les résultats suivants pour lesquels nous constatons seulement 1 p. 100 de discordance (tableau I).

TABLEAU I.

Test de Kline	Concordants	3007	Discordants	30
Standard	+	-	+	-
Exclusion	+	-	-	+
Nombre de cas	630	2.377	4	26

Résultats obtenus en testant 3 037 sérums par les réactions qualitatives de Kline standard et de Kline exclusion.

Les sérums dont les résultats discordent proviennent presque tous de malades syphilitiques traités, pour lesquels on avait déjà constaté la négativation d'une ou de plusieurs réactions. Seuls font exception quatre sérums présentant des réactions de Kline standard négatives et des réactions de Kline exclusion positives et correspondant à des sujets dont l'histoire ne révèle aucun antécédant syphilitique avoué.

Il serait trop hâtif de conclure à des « fausses positives », car nombreuses sont les syphilis inavouées ou même inapparentes et fortuitement traitées. Plutôt qu'un manque de spécificité, nous préférons voir dans ces premiers résultats une modification de

(1) Cette technique de préparation de la suspension d'antigène est celle de la réaction de Kline exclusion.

la sensibilité de la réaction qui, pour les sérums peu chargés en réagine, peut faire apparaître une dissociation des résultats qualitatifs. Pour vérifier cette hypothèse, nous avons étudié la sensibilité comparée des deux réactions avec des dilutions successives de sérum (progression géométrique de raison 1/2) et noté l'extinction du phénomène de micro-agglutination, tant dans la zone d'excès d'antigène (tests quantitatifs classiques) que dans la zone d'excès d'anticorps.

Dans la zone d'excès d'antigène, nous avons noté pour chacun des tests la plus forte dilution de sérum qui, en présence d'une quantité fixe d'antigène, donne encore une réaction nette. Le taux de positivité ainsi obtenu a été souvent le même pour les deux réactions ; parfois, il était plus élevé pour l'une ou pour l'autre réaction et ceci, à un taux deux fois ou quatre fois plus grand. Sur 694 sérums examinés, le nombre de cas où la sensibilité est égale, augmentée ou diminuée, est rapporté dans le tableau II.

TABLEAU II.

Sensibilité									
	diminuée de:				inchangée	augmentée de:			
	1/4:	1/3:	1/2:	1/1.5:		1.5:	2:	3:	4:
Nombre de	:	:	:	:	:	:	:	:	:
cas	0	45	0	8	310	23	278	2	28

Répartition de 694 échantillons de sérums positifs, suivant que l'intensité de la réaction quantitative de Kline exclusion est diminuée (53 sérums), inchangée (310 sérums), ou augmentée (331 sérums) par rapport à celle de Kline standard. Les échantillons ont été groupés suivant que l'intensité de la réaction est diminuée de 1/1,5 ; 1,2 ; 1/3 ; 1/4, ou augmentée de 1,5 ; 2 ; 3, et 4.

On voit qu'à part quelques exceptions, la plupart des sérums (92,4 p. 100) ont un taux de positivité inchangé ou augmenté lorsqu'on remplace l'antigène Kline standard par l'antigène Kline exclusion. Ceci permet de comprendre pourquoi, chez les malades syphilitiques traités arrivés au voisinage de la période de négativité, un plus grand nombre de sérums sont positifs seulement avec le test « exclusion ».

Pour comparer de la même façon ces deux tests dans la zone d'excès d'anticorps, il aurait fallu examiner un grand nombre de sérums donnant le « phénomène de zone ». Or ces sérums sont rares et l'inhibition qu'ils donnent dans la zone d'excès d'anticorps est le plus souvent partielle. Toutefois, en appréciant de + à ++++ l'intensité de la réaction avec le sérum pur, on peut se rendre compte que l'inhibition par excès d'anticorps que l'on constate avec les sérums « hyperpositifs » est généralement

plus importante pour le test de Kline exclusion que pour celui de Kline standard.

Pour mettre le phénomène en évidence d'une façon plus accusée, nous avons préféré comparer les résultats obtenus avec quelques sérums « hyperpositifs » en pratiquant simultanément les deux tests quantitatifs avec des doses décroissantes d'antigène. Pour les faibles doses d'antigène, on voit alors apparaître avec le sérum pur, une inhibition totale, plus marquée avec le test « exclusion » qu'avec le test « standard » (exemple tableau III).

TABLEAU III.

Dilutions de sérum		1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
Kline standard	1	++++	++++	+++	++	+	-	-
	1/2	+++	+++	+++	++	+	-	-
	1/4	++	+++	+++	++	+	-	-
	1/8	++	+++	++	+	+	-	-
Kline exclusion	1	++++	++++	++++	++	+	+	-
	1/2	+	+++	+++	++	+	+	-
	1/4	-	++	++	+	+	-	-
	1/8	-	+	++	+	-	-	-

Inhibition dans la zone d'excès d'anticorps et d'excès d'antigène pour un même sérum examiné par les tests de Kline standard et Kline exclusion.

Le phénomène est d'autant plus accusé qu'il s'agit d'individus parasités depuis longtemps par le tréponème, que ces malades aient été traités ou non ; il se produit aussi bien avec des sérums ayant un faible taux de réagine qu'avec des sérums riches en réagine. Ces résultats peuvent être expliqués par le mode de préparation de la suspension de l'antigène « exclusion » : par élimination des plus petites micelles, la réaction quantitative habituelle est plus sensible, mais elle est aussi plus sujette au phénomène de zone que la réaction utilisant de l'antigène « standard ». La réaction « exclusion » est donc susceptible de donner plus de réponses qualitatives négatives ou douteuses chez les syphilitiques porteurs depuis longtemps de tréponèmes que la réaction standard.

On pourra faire des constatations analogues si, au lieu d'agir sur l'antigène, c'est à l'anticorps que l'on fait subir des modifications physico-chimiques.

FACTEURS AGISSANT SUR L'IMMUNSÉRUM.

« L'inactivation » du sérum (chauffage à 56° pendant une demi-heure) qui, pour certains, aurait l'inconvénient d'atténuer l'activité de l'anticorps, est le facteur qui nous a semblé le plus intéressant à étudier. La composition des plasmas sanguins différant selon les espèces animales, nous avons cherché à voir si les résultats trouvés avec les sérums humains peuvent être généralisés à d'autres espèces. Nous avons, pour cette étude, réalisé le test de Kline « standard » quantitatif, avec du sérum chauffé et avec du sérum frais provenant de 224 individus syphilitiques et avec le sérum frais et le sérum chauffé de 135 lapins inoculés par voie intratesticulaire depuis des temps variables avec des tréponèmes pathogènes (souche Nichols).

Le nombre de sérums dont le taux de positivité a été inchangé, augmenté ou diminué par le chauffage, est reporté dans le tableau IV.

TABLEAU IV.

	Sensibilité					
	diminuée		inchangée		augmentée	
	Nbre de cas	Nbre de cas %	Nbre de cas	Nbre de cas %	Nbre de cas	Nbre de cas %
Homme	33	15%	54	24%	137	61%
Lapin	20	14%	86	65%	29	21%

Modifications de la sensibilité de la réaction quantitative de Kline standard après chauffage de l'immunsérum (homme ou lapin) par rapport au même immunsérum non chauffé.

On voit que chez l'homme et le lapin, 15 p. 100 environ des sérums donnent des réactions moins intenses après chauffage ; presque tous les sérums, au contraire, donnent des réactions inchangées ou augmentées, l'augmentation de sensibilité étant beaucoup plus nette dans l'espèce humaine que chez le lapin.

Ces faits montrent que l'on a intérêt à chauffer les sérums humains avant d'effectuer un séro-diagnostic de la syphilis à l'aide de ces réactions de micro-agglutination. Ce chauffage à 56° n'est pas destiné à détruire le complément, mais à favoriser la réaction soit par destruction de substances thermolabiles inhibitrices, soit par formation d'associations protéiniques.

FACTEURS AGISSANT SUR LA RÉACTION ANTIGÈNE-ANTICORPS.

1° *L'agitation* modérée [2, 3] favorisant les réactions d'accolement antigène-anticorps, peut modifier l'intensité du test quan-

titatif. Pour cette étude nous avons soumis les mélanges sérum-réactif antigénique à des agitations d'une durée variable pouvant aller jusqu'à quinze minutes. Suivant les sérums, l'influence de la durée de l'agitation a été plus ou moins nette. Pour certains sérums le phénomène atteignait son maximum rapidement, pour d'autres, après dix à quinze minutes d'agitation, on notait encore une augmentation de l'intensité du phénomène et ceci quel que soit le titre du sérum examiné.

2° *L'addition de polyvinylpyrrolidone* (P. V. P.), substance macro-moléculaire qui favorise la formation des agrégats antigène-anticorps [5], était un facteur susceptible de modifier la réaction de Kline [14]. En fait, notre expérimentation portant sur 1836 sérums examinés qualitativement par le test de Kline standard et par le même test, mais en présence de 3,5 p. 100 du poly-électrolyte (P. V. P.), ne nous a pas montré un grand écart dans les résultats (tableau V).

TABLEAU V.

Kline standard	Concordants:1826		Discordants:10	
Sans P.V.P.	+	-	+	-
Avec P.V.P.	+	-	-	+
Nombre de cas	361	1.465	5	5

Résultats de tests qualitatifs obtenus en examinant 1836 sérums par la réaction de Kline standard, avec et sans polyvinylpyrrolidone.

Nous nous sommes arrêtés à la concentration de 3,5 p. 100. A plus faible concentration, l'influence est peu visible. A des concentrations plus élevées, il se produit souvent une dénatura-tion de certains sérums (fausses réactions positives).

De même, les tests quantitatifs effectués sur 344 sérums avec la réaction de Kline standard, simultanément en l'absence et en présence de P. V. P., ont souvent donné des résultats identiques (60 p. 100 des cas). Dans 20 p. 100 des cas la sensibilité de la réaction est augmentée par le P. V. P. et dans 20 p. 100 elle est diminuée (tableau VI).

3° *L'augmentation de la concentration en chlorure de sodium* au cours de la réaction de Kline standard nous a semblé parti-culièrement intéressante à étudier, car les techniques sérolo-giques qui sont pratiquées habituellement avec le sérum frais, en utilisent de fortes concentrations. Pour notre étude, nous avons choisi la concentration finale de 3,5 p. 100 qui est celle utilisée pour la réaction de Meinicke. Nous l'avons obtenue en

TABLEAU VI.

	Sensibilité									
	diminuée				inchangée	augmentée de:				
	1/4	1/3	1/2	1/1.5		1.5	2	3	4	
Nombre de cas	1	6	28	33	206	7	55	1	5	

Répartition de 344 échantillons de sérums positifs suivant que l'intensité de la réaction quantitative de Kline est diminuée (68 sérums), inchangée (206 sérums) ou augmentée (68 sérums) en présence de polyvinylpyrrolidone.

Les échantillons ont été groupés suivant que l'intensité de la réaction est diminuée de 1/1,5 ; 1/2 ; 1/3 ; 1/4 ou augmentée de 1,5 ; 2 ; 3 et 4.

ajoutant 1/60 de centimètre cube d'une solution saturée de chlorure de sodium au cours même de la réaction. Les tests de Kline quantitatif standard avec ou sans addition de chlorure de sodium ont été faits simultanément avec le sérum frais, d'une part, avec le sérum chauffé, d'autre part. Les sérums examinés dans ces conditions provenaient de deux espèces animales : sérum humain et sérum de lapin.

Les résultats obtenus (tableau VII) montrent que, chez l'homme, le test de Kline standard avec le sérum frais est généralement plus sensible s'il y a addition de chlorure de sodium, tandis que chez le lapin, au contraire, les tests sont généralement moins sensibles dans ces mêmes conditions.

TABLEAU VII.

	Sensibilité							
	diminuée				inchangée		augmentée	
	Nbre de cas	p. %	Nbre de cas	p. %	Nbre de cas	p. %	Nbre de cas	p. %
sérums frais	Homme 177	35	19%	34	19%	108	62%	
	Lapin 190	106	56%	58	30%	26	14%	
sérums chauffés	Homme 363	106	29%	147	41%	110	30%	
	Lapin 240	136	57%	86	36%	18	7%	

Pourcentage de sérums présentant une modification de sensibilité de la réaction de Kline standard quantitative par addition de chlorure de sodium (3,5 p. 100).

Résultats avec les immunosérums humains et de lapins, frais et chauffés.

Mais si les mêmes expériences sont pratiquées après chauffage préalable du sérum, la sensibilité dans l'ensemble n'est plus

augmentée dans l'espèce humaine, alors qu'elle reste toujours diminuée dans l'espèce lapine (tableau VII).

La sensibilité des tests avec les sérums humains frais et chauffés en présence de 0,9 p. 100 et de 3,5 p. 100 de chlorure de sodium a pu être étudiée dans la zone d'excès d'anticorps grâce à la comparaison des résultats obtenus dans ces différentes conditions avec quelques sérums « hyperpositifs ». L'intensité des réactions obtenues avec le sérum pur a été cotée de 1 à 4 ; les taux moyens montrent, d'une part, que le « phénomène de zone » est beaucoup plus accentué avec le sérum frais qu'avec le sérum chauffé ; d'autre part, que l'addition de chlorure de sodium, qui est sans influence si le sérum a été chauffé, diminue l'importance de ce phénomène si le sérum est frais (tableau VIII).

TABLEAU VIII.

Sérum humain	frais	chauffé
Concentration en ClNa 0,9 p.100	0,92	3,47
Concentration en ClNa 3,5 p.100	2,07	3,44

Intensité moyenne des réactions de Kline standard dans la zone d'excès d'anticorps : résultats avec les sérums humains frais et chauffés.

Du point de vue pratique [14], dans l'espèce humaine, il est préférable de réaliser la réaction de Kline avec le sérum chauffé, car elle est alors plus sensible et moins susceptible de donner des réponses qualitatives négatives pour les sérums très chargés en réagine (phénomène de zone). Si le sérum n'est pas chauffé, une sensibilité analogue peut être obtenue par addition de chlorure de sodium (concentration finale de 3,5 p. 100), mais la disparition du phénomène de zone avec les sérums hyperpositifs est alors moins nette que lors du chauffage préalable. Pour l'espèce lapin, le chauffage préalable n'intensifie pas dans l'ensemble la réaction, tandis que l'addition de chlorure de sodium est au contraire néfaste.

EVOLUTION DES COURBES SÉROLOGIQUES.

On peut constater l'influence de certains facteurs physico-chimiques sur le test de Kline — chauffage, concentrations en ClNa — facteurs qui parfois augmentent ou parfois diminuent la sensibilité de la réaction. Il est intéressant de rechercher si

cette influence se manifeste toujours dans le même sens chez un même individu au cours de la maladie et de son traitement.

Nous avons donc établi avec les prélèvements sanguins successifs effectués sur plusieurs sujets syphilitiques, quatre courbes sérologiques exprimant les résultats des réactions de Kline standard réalisées avec le sérum frais d'une part, avec le sérum chauffé d'autre part et avec deux concentrations différentes en chlorure de sodium dans les deux cas. Aussi bien dans l'espèce humaine que chez le lapin syphilitisé, nous n'avons jamais constaté de prédominance d'une courbe sur une autre ; l'enchevêtrement des quatre courbes montre des fluctuations sans ordre apparent des résultats sérologiques fournis par les tests pratiqués dans ces différentes conditions.

Le sens de la variation de la sensibilité sous l'influence de ces facteurs ne semble donc pas lié à l'état plasmatique particulier de certains sujets, ni à l'âge de la maladie, mais plutôt à une modification de l'équilibre sérique qui peut apparaître à l'occasion d'agressions diverses.

CONCLUSIONS.

De très nombreux facteurs aspécifiques influent sur la formation du complexe réagine syphilitique-cardiolipide. L'étude de certains de ces facteurs — chaleur, agitation, concentration en électrolytes et polyélectrolytes — montre que les effets produits par chacun d'eux sur divers sérums syphilitiques ne sont pas toujours orientés dans le même sens (2). Suivant les échantillons, ils exaltent ou atténuent l'apparition du complexe antigène-anticorps, qui est révélé par la réaction de Kline.

En effet, l'union spécifique de la réagine syphilitique au cardiolipide, se trouve, comme toute réaction séro-immunologique, sous la dépendance des différents constituants du plasma ; ces constituants, qui accompagnent la réagine dans le sérum examiné, sont eux-mêmes sensibles aux différents facteurs physico-chimiques étudiés.

L'équilibre plasmatique, qui interfère ainsi sur la réaction spécifique antigène-anticorps, n'est nullement constant chez un même individu ; il varie fréquemment, car il est en rapport avec l'état de défense de l'organisme aux diverses agressions.

(2) On ne doit donc accorder aucune valeur diagnostique aux « tests de vérification » de Kahn, dont le principe s'avère faux. En effet, nous avons vu ici que la richesse du milieu réactionnel en chlorure de sodium, ainsi que la température, peuvent agir, selon les échantillons de sérums syphilitiques, de façons différentes et parfois opposées sur l'intensité de la réaction antigène-réagine.

Cependant, en étudiant l'influence de ces facteurs non spécifiques sur un nombre important de sérums syphilitiques, on peut dégager des différences nettes, non pas individuelles, mais « statistiques ». Le sérum humain a un comportement différent de celui du lapin.

Ces constatations montrent que la détermination des conditions de réalisation d'un test sérologique de la syphilis nécessite des études comparatives nombreuses portant sur un nombre élevé d'échantillons de sérum et, lorsque ces conditions sont établies, elles doivent être rigoureusement suivies lors de l'exécution du test.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] R. A. GREENE et E. L. BREAZEALE. *Ariz. Med.*, 1947, **4**, 51.
- [2] S. S. KLEIN, B. E. KONWALER et Ph. S. GOLDKING. *J. Lab. clin. Med.*, 1952, **40**, 146.
- [3] W. MACHALA et F. R. HASSLER. *J. Vener. Dis. Inform.*, 1951, **32**, 319.
- [4] A. K. MITRA, S. K. BISWAS, S. SEN et N. C. BHATTACHARJEE. *Brit. J. vener. Dis.*, 1953, **29**, 228.
- [5] E. NEUZIL, R. PAUTRIZEL et J. MARQUEVIELLE. *C. R. Soc. Biol.*, 1949, **143**, 1185.
- [6] M. C. PANGBORN. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 1941, **48**, 484.
- [7] M. C. PANGBORN. *J. biol. Chem.*, 1942, **143**, 247.
- [8] M. C. PANGBORN. *J. biol. Chem.*, 1945, **161**, 71.
- [9] M. C. PANGBORN. *Prophyl. antivener.*, 1950, **22**, 532.
- [10] V. A. PUCCINELLI. In *Le T. P. I. Test de Nelson-Mayer et les nouveaux aspects immunologiques de la syphilis*, Paris, Masson, 1953, 347 p.
- [11] J. THIERY. *Ann. Biol. clin.*, 1951, **9**, 221.

ÉTUDE D'UNE SOUCHE DE *BACILLUS*, PATHOGÈNE POUR CERTAINS INSECTES, IDENTIFIABLE A *BACILLUS THURINGIENSIS* BERLINER

par M^{lle} BERTHE DELAPORTE et M^{me} S. BÉGUIN (*).

(Laboratoire de Biologie Végétale du P. C. B.
et Service des Fermentations de l'Institut Pasteur)

Dès les premiers essais d'utilisation des espèces bactériennes dans la lutte contre les insectes, il a été constaté que des souches de *Bacillus*, appartenant non seulement à des espèces différentes, mais aussi à la même espèce, possédaient un pouvoir pathogène inégal [13, 14, 17, 21, 18, 23, 7]. Nous avons donc été ainsi amenées à sélectionner un certain nombre de souches ; nous décrivons ici l'une des plus virulentes parmi celles qui ont été retenues et qui est utilisée actuellement dans certaines de nos expériences, en particulier dans la lutte contre la piéride du chou (1) [*Pieris brassicae*].

ORIGINE DE LA SOUCHE.

Cette souche a été isolée de litières d'une pièce d'élevage de vers à soie, en 1952, par C. Vago (2), de la Station de Recherches Séricicoles d'Alès (Laboratoire de Pathologie des Insectes) à Anduze, dans le Gard ; d'où sa désignation provisoire : souche « Anduze ». Elle a été conservée à Alès, soit uniquement sur gélose nutritive inclinée avec des repiquages tous les deux mois environ, soit alternativement sur gélose inclinée et sur insecte ; c'est la souche conservée selon la seconde manière qui a été reçue à l'Institut Pasteur le 10 novembre 1952 ; elle avait subi des passages sur ver à soie, sur piéride du chou et sur processionnaire du pin. Elle est entretenue à l'Institut Pasteur sur gélose au haricot saccharosée (piqûre en gélose profonde).

(*) Société Française de Microbiologie, séance du 7 juillet 1955.

(1) Les applications agricoles de l'emploi des germes pathogènes pour les insectes sont réalisées au Laboratoire de Biocénétique et de Lutte Biologique de La Minière (I. N. R. A.) par P. Grison et ses collaborateurs.

(2) Nous remercions M. Vago d'avoir bien voulu nous donner cette souche.

Un stock de spores est conservé sur carrés de papier filtre en tubes scellés après dessiccation.

ÉTUDE DE LA SOUCHE « ANDUZE ».

ASPECT MICROSCOPIQUE. — Gram+, ce germe se présente, dans des cultures de vingt-quatre heures à 30° sur gélose, par examen à l'état frais, sous la forme de gros bâtonnets ayant, à vingt-quatre heures, 1,2 à 1,5 μ de largeur sur 4,5 à 7,5 μ de longueur ; leurs extrémités sont plutôt carrées ; ils se trouvent isolés, ou par paires, ou en courtes chaînes de 4 à 8 éléments, rarement davantage ; ils sont peu mobiles. L'intérieur des bâtonnets est assez hyalin, très peu granuleux. A cet âge, peu de bactéries commencent à former des spores, mais à quarante-huit heures, l'aspect est nettement différent ; dans la plupart des bâtonnets sont visibles deux éléments subpolaires : vers l'une des extrémités, une spore ovoïde très réfringente mesurant 0,6 à 0,7 sur 1,5 à 1,6 μ ; vers l'autre extrémité, et souvent assez près de la spore, est visible un cristal rhombique à extrémités nettement pointues, d'une grosseur et d'une réfringence voisines de celles de la spore. L'axe principal de ce cristal est en général fortement incliné par rapport à l'axe du bâtonnet. Les figures de la planche hors-texte montrent divers aspects de ces cristaux sur des photos prises au microscope électronique (3) soit après coupes extra-minces de sporanges (fig. 1, 2 et 3), soit lors de la libération des cristaux et des spores (fig. 4 et 6). Une coupe approximativement transversale au grand axe du cristal montre une section presque carrée (fig. 3). L'ombre du cristal de la figure 4 donne une indication sur sa forme. La figure 5 représente deux cristaux ayant été traités pendant vingt minutes par la soude à 0,4 p. 100 ; la partie intérieure a été partiellement hydrolysée.

Les spores et les cristaux sont libérés en même temps. On voit quelquefois des cristaux nettement plus petits que les spores, exceptionnellement deux cristaux dans le même sporange ; d'autres fois les angles des sommets du cristal sont émoussés. On voit, sur les photos de préparations prises au microscope électronique, certains cristaux présentant un côté incurvé qui forme, au sommet, une sorte de bec (fig. 4). Les cristaux ne restent pas colorés par la réaction de Gram ; ils prennent divers colorants basiques, entre autres la fuchsine, et ne montrent aucune réaction positive lors de la réaction nucléale de Feulgen. Ils demeurent inaltérés dans les vieilles cultures.

Ce bacille forme d'ordinaire très peu de globules lipidiques et

(3) Nous remercions M. Lépine, M^{lle} Croissant et M^{lle} Harleux d'avoir bien voulu prendre des photos au microscope électronique.

pas de glycogène. On trouve généralement, dans les cultures, un très petit nombre de bâtonnets dont la paroi, dans sa totalité, ou seulement à une extrémité, devient très épaisse, très réfringente et très rugueuse. Nous ignorons la signification de cette transformation de la membrane.

ASPECT MACROSCOPIQUE. — Les cultures sur gélose au haricot peptonée saccharosée, ou sur gélose nutritive, donnent en vingt-quatre heures à 30°, des colonies moyennes ou assez grandes, arrondies, minces, plates ou en cône très aplati, à bord finement dentelé, sans mèche ou filament envahissant, à surface granitée et mate, blanches ou à peine grisâtres, un peu transparentes, de transparence moirée à la loupe. Au grossissement de $\times 80$, elles apparaissent très finement granuleuses avec des stries ; leur bord est serti de deux à quatre lignes plus denses. Les colonies grandissent pendant les jours suivants, elles prennent d'ordinaire une teinte rosâtre ou rougeâtre.

Les colonies se trouvant à l'intérieur de la gélose en boîte de Petri sont toujours petites, soit en forme de lentille, soit en forme de masse arrondie, dense, à peine rhizoïde sur les bords, dans laquelle on distingue souvent qu'une lentille a été l'origine de la colonie.

Sur gélose inclinée, la culture est mince, finement granuleuse, plutôt brillante, blanc grisâtre, un peu transparente ; elle devient un peu plus épaisse et plus opaque en vieillissant. Ces cultures prennent généralement par la suite une couleur rougeâtre, la teinte rose diffusant à l'intérieur de la gélose, mais la production de pigment n'est pas absolument constante au cours des repiquages successifs.

ETUDE BIOLOGIQUE. — *Le bouillon nutritif* devient de plus en plus trouble ; on y voit des ondes moirées au début, puis une trace d'anneau qui tombe. Il se forme un dépôt abondant.

Sur pomme de terre glycinée : culture luxuriante, légèrement mauve rosé à vingt-quatre heures. La coloration s'accroît ensuite pour devenir rosâtre.

Hydrolyse de l'amidon : positive ; forte acidification du milieu.

Production d'acétylméthylcarbinol : Sur milieu de Clark et Lub . faible production.

Réactions de fermentation : Il y a, sans formation de gaz, une production d'acide assez forte à partir de glucose, lévulose, maltose, faible à partir de saccharose et glycérol. Il n'y a pas de production d'acide avec l'arabinose et le xylose ; avec le lactose, le galactose et le mannitol, il y a alcalinisation du milieu.

Pouvoir protéolytique : Hydrolyse de la *gélatine* : la gélatine ensemencée en piqûre est rapidement liquéfiée ; la liquéfaction

débute dès vingt-quatre heures en forme de doigt de gant ; après trois jours, des rhizoïdes pénètrent dans l'épaisseur de la gélatine, dans la partie supérieure en forme d'ombrelle. La liquéfaction est totale en trente à trente-cinq jours à 20°, mais à 30° elle a lieu en trois à quatre jours.

Hydrolyse de la *caséine* : le lait n'est que peu et lentement coagulé. La peptonisation de la caséine débute de façon visible vers le troisième jour et est totale vers le dixième ou quinzième jour. Le pH du milieu n'est pas modifié.

Le *sérum coagulé* est attaqué dès le premier jour, mais la liquéfaction n'est que partielle.

Les *nitrites* sont réduits en nitrites.

Pouvoir réducteur : Sur gélose au *sous-acétate de plomb* : pas de noircissement.

Recherche de la lécithinase : Sur gélose à l'œuf de McClung et Toabe [10] : auréole de précipitation de la lécithine avec faible rosissement du milieu.

Recherche de l'indol : En eau peptonée, pas de production d'indol.

Recherche du pouvoir hémolytique : Large auréole d'hémolyse en vingt-quatre heures.

Recherches de l'anaérobiose : Croissance nette en bouillon V₆ et en gélose profonde : le germe est anaérobie facultatif.

Discussion.

LES INCLUSIONS CRISTALLINES.

Des inclusions cristallines chez les bacilles pathogènes pour les insectes ont été observées dès 1915 par Berliner [3], qui, décrivant *B. thuringiensis* pour la première fois, note la formation, au moment de la sporulation, de « einem zuerst kugeligen, später runzeligen und unregelmässig rombisch geformten Gebilde » (4). Mattes [11] les remarque également en 1927. Hannay en 1953 [8], Angus en 1954 [1] entreprennent leur étude et mettent en évidence une relation étroite entre la présence de ces cristaux et le pouvoir pathogène des souches où ils se forment. Steinhaus [18] confirme ces expériences. Mais Toumanoff [25], qui observe à son tour ces cristaux dans les cultures de *B. cereus* var. *alesti*, discute les conclusions des auteurs précédents ; il considère que d'autres facteurs interviennent dans l'effet pathogène des souches étudiées, en particulier une lécithinase élaborée par les germes jouerait un rôle (Toumanoff et collaborateurs [24]). Heimpel [9], travaillant

(4) « Un élément de forme d'abord globuleuse, ensuite rugueuse et irrégulièrement rhombique. »

avec des souches ne possédant pas de cristaux, considère également qu'il y a rapport de cause à effet entre l'élaboration d'une lécithinase et le pouvoir pathogène du *B. cereus* qu'il a utilisé.

Il nous est difficile de discuter du rôle de la lécithinase : tous les *B. cereus* en produisent et pourtant la plupart, sinon tous, ne sont pas pathogènes. En outre, si un rôle pathogène est attribué à la lécithinase, comment expliquer que les jeunes cultures où la lécithinase est immédiatement élaborée — l'action sur le jaune d'œuf en moins de vingt-quatre heures le prouve — ne sont pas pathogènes ? C'est un fait unanimement reconnu [13, 18, 3, 11, 2, 6, 22]. Et comment expliquer que seules les cultures sporulées sont virulentes ?

Nous avons pu constater à notre tour que la souche « Anduze » formant un cristal (et une lécithinase) est pathogène pour certains insectes. Quelques résultats obtenus sur processionnaire du pin ont déjà été publiés [7]. D'autres, obtenus dans la lutte contre la piéride du chou, le seront plus tard. Ils sont significatifs puisque la souche « Anduze », employée au laboratoire, à la dose de 120 millions de spores par millilitre, à raison de 20 ml pulvérisés sur feuille de chou portant une colonie de 25 chenilles du troisième stade, donne 100 p. 100 de mortalité en huit jours, tandis qu'une souche de *B. cereus* Frankl. et Frankl. typique, produisant aussi une lécithinase, mais ne formant pas de cristal, utilisée dans les mêmes conditions, reste absolument sans effet sur les chenilles (5).

En accord avec Hannay, Angus et Steinhaus, il nous semble donc très probable que c'est à ce cristal, ou tout au moins à un facteur lié à la présence du cristal, que l'on doit attribuer le pouvoir pathogène des souches en cause.

PLACE DE LA SOUCHE « ANDUZE » DANS LA CLASSIFICATION DES BACTÉRIES.

Cette étude morphologique et bactériologique de la souche « Anduze » montre qu'elle appartient incontestablement au groupe de *Bacillus cereus* Frankland et Frankland. Elle en possède les divers caractères d'activité biochimique et elle lui ressemble d'assez près par ses caractères microscopiques et l'aspect des cultures sur gélose. Les détails qui l'en distinguent seront exposés plus loin. Mais elle est pathogène pour certains insectes et possède les cristaux décrits plus haut. En cela elle se rapproche des différents *B. cereus* pathogènes utilisés par de nombreux auteurs, décrits pour la première fois par Berliner [3], Ishiwata, Aoki et Chigasaki [2], Toumanoff et Vago [19] et appelés par ces auteurs

(5) Nous remercions M. Grison et ses collaborateurs de nous avoir communiqué les résultats des tests d'efficacité réalisés sur chenilles.

respectivement : *B. thuringiensis*, *B. sotto*, *B. cereus* var. *alesti*. (Nous ne parlerons pas du germe isolé et décrit par Metalnikov et Chorine en 1929 et appelé par eux *Bacterium ephestiae* [12] puisque, dès l'année suivante, il fut reconnu par Ellinger et Chorine [5] comme étant un *Bacillus thuringiensis*). La nomenclature de ces *Bacillus* a été souvent remaniée. En effet, en 1946, Smith, Gordon et Clark [15] placent le *B. thuringiensis* comme synonyme de *B. cereus* dont il ne se distingue que par la pathogénicité vis-à-vis des insectes ; mais en 1952, ayant constaté « the tendency of the spore to lie obliquely in the sporangium » (n'y a-t-il pas eu, comme le pense également Steinhaus [18], confusion — d'ailleurs très facile à faire — du cristal losangique, dont le grand axe est en effet en oblique à l'intérieur du germe, avec une spore ?) Smith, Gordon et Clark [16] proposent de placer *B. thuringiensis* comme une variété de *B. cereus* plutôt que comme un synonyme. La même année, Toumanoff [20] suggère la même dénomination ainsi que celle de *B. cereus* var. *sotto* au lieu de *B. sotto* puisque *B. sotto* possède tous les caractères d'un *B. cereus*. Enfin en 1954, Steinhaus et Jerrel [18] apportent une dernière modification à la nomenclature et annoncent : « in correspondence, Dr. Smith stated that whereas academically *B. thuringiensis* should be considered as a variant of *B. cereus*, from the practical standpoint it has been thought best to retain these as separate species, at least for the present. Recently, Dr. Smith informed the authors that the forthcoming seventh edition of *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* will refer to the organism as a separate species and use the name *Bacillus thuringiensis* Berliner ». Nous-mêmes pensons que cette dénomination est celle que l'on doit adopter. Nous en donnons les raisons plus loin.

Quelle est donc la place de la souche « Anduze » par rapport à ces trois souches, pathogènes toutes les trois pour les insectes ? Est-elle une variété nouvelle, ou est-elle identique à l'une d'elles ?

Résumons dans un tableau les caractères morphologiques et cultureux des quatre *Bacillus*. Pour les descriptions ou pour les résultats des tests biologiques, nous nous sommes référées aux descriptions données dans les travaux originaux.

L'étude de ce tableau nous montre que la souche « Anduze » ne semble pas distinguishable de la première des souches et que, appartenant au groupe de *B. cereus*, mais pathogène pour les insectes et possédant les inclusions décrites ci-dessus, elle répond à la définition de *B. thuringiensis*, tel que, d'après Steinhaus, il sera défini par Smith dans la prochaine édition du *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*.

La souche « Anduze » n'est donc autre chose qu'un *B. thuringiensis*.

	<u>B. thuringiensis</u> fr. et all. références (3) et (4)	<u>B. cereus</u> var. <u>soltis</u> (2) et (20)
Aspect microscopique	Bât. droit, avec angles arrondis, 1,8 x 5 µ, faiblement mobile ou immobile, chaînes de 3 à 4 éléments, rarement davantage, granulations.	Bât. très souvent en chaînes, aspect de filaments enchevêtrés; 3 ou 4 éléments, rarement davantage.
Colonies sur gélose ordinaire ou sur gélose haricot-peptone-saccharose	Col. blanches, d'apparence sèche (4) Col. jaunâtres, mates et sèches, à bords faiblement lobés.	Col. blanchâtres, mates. Aspect plutôt cireux.
Spores	Ovales, subterminales, 1 x 2 µ.	Ovales, subterminales.
Présence de cristaux	+	+
Culture en bouillon ordinaire	Voile mince qui grimpe un peu sur le paroi du tube et tombe par agitation	Trouble uniforme, ondes noirées.
Pomme de terre	Culture assez épaisse, gris-jaunâtre (Berliner) Colonies riches, blanches (Chorine).	Enduit blanc et terne sans pigmentation.
Sérum coagulé	Liquéfaction partielle.	Légère liquéfaction du milieu.
Gélatine	Liquéfaction, d'abord en surface, qui avance dans toute la largeur du tube vers le fond. Liquéfaction lente, cratériforme (Chorine).	Liquéfaction déjà importante à 24 h.
Lait tournesolé	Début de peptonisation à 3 j.; totale en 10 j. (Berliner) Pas de modification des teintes, ou légère coloration rose, selon les souches (Chorine)	Digestion très forte après 5 j., sans modification de teinte.
Anaérobiose	Facultatif	Facultatif
Pouvoir hémolytique	+	+
Production d'incol	-	-
Formation de nitrites à partir de nitrates	+	+
Gélose au sous-acétate de plomb	-	-
Formation d'acétyl-méthylcarbinol	-	+
Production de pigment rose sur milieu à l'oeuf (25)	-	-
Action sur les sucres:		
glucose	+	+
levulose	+	+
galactose	-	-
saccharose	+	+
maltose	+	+
lactose	-	-
mannite	-	-

	<u><i>B. cereus</i> var. <i>alesti</i></u> (25) et (19)	"Anduse"
Aspect microscopique	Bât. ayant 1 à 5 μ , à bouts arrondis, isolés ou en chaînettes.	Bât. de 1,2 à 1,5 x 5 à 7 μ , isolés ou en chaînettes, très peu mobiles.
Colonies sur gélose ordinaire ou sur gélose haricot-peptone-saccharose	Pas de description des colonies.	Col. blanc-grisâtres pouvant devenir roses après 3 à 4 jours, mates, à bords faiblement lobés.
Spores	Subterminales, ovales, 1 à 1,5 μ de longueur.	Ovales, subterminales, 0,7 x 1,6 μ .
Présence de cristaux	+	+
Culture en bouillon ordinaire	Trouble uniforme, puis dépôt au fond du tube. Pas d'anneau.	Trouble, ondes noirées, trace d'anneau et dépôt abondant.
Pomme de terre	Enduit légèrement brunâtre qui devient rouge-brique après 4 jours.	Culture luxuriante, rosée après 24 h. la coloration peut parfois s'accroître.
Sérum coagulé	Pas de modification au bout de 9 j.	Légère attaque dès le 1er jour, mais la liquéfaction reste partielle.
Gélatine	Liquéfaction lente, mais totale en 4 j.	Liquéfaction en doigt de gant commençant dès 24 h. à 20°, et totale en 35 j. Totale en 3 à 4 j. à 30°.
Lait tournesolé	Peptonisation commencée après 3 j. Virage au mauve.	Peptonisation commencée après 3 j., totale après 8 à 10 j. Pas de modification de teinte.
Anaérobiose	Facultatif	Facultatif
Pouvoir hémolytique	+	+
Production d'indol	-	-
Formation de nitrites à partir de nitrates	+	+
Gélose au sous-acétate de plomb	-	-
Formation d'acétylméthylcarbinol	+	+
Production de pigment rose sur milieu à l'oeuf (25)	+	±
Action sur les sucres:		
glucose	+	+
lévulose	+	+
galactose	-	-
saccharose	+	+
maltose	-	+
lactose	-	-
mannite	-	-

Ce tableau nous montre en outre, que non seulement « Anduze », mais également *B. cereus* var. *sotto* ne se distingue pas de *B. thuringiensis*. Quant à la souche *B. cereus* var. *alesti*, quelles différences présente-t-elle ? Toumanoff et Vago [21] ont déjà comparé les variétés *sotto* et *alesti* :

1° Aspect plus filamenteux de *B. sotto* sur gélose ordinaire, considèrent-ils, mais, dans leur première description de *B. cereus* var. *alesti* [19], ils ont montré que l'on peut observer des chaînes de 180 μ de longueur sur bouillon de haricot peptoné saccharosé à pH 6.

2° Liquéfaction plus lente de la gélatine par la var. *alesti*. Néanmoins elle est totale en quatre jours ; et par ailleurs Chorine qualifie également de « lente » la liquéfaction de la gélatine par *B. thuringiensis*.

3° Le lait tournesolé serait digéré par *B. sotto* sans modification de teinte alors que *B. cereus* var. *alesti* le ferait virer au mauve...

4° Action sur le sérum coagulé : c'est l'une des deux différences essentielles qui apparaît entre *B. cereus* var. *alesti* et les autres souches.

Mais nous avons, à notre tour, étudié parallèlement l'action de *B. cereus* var. *alesti* (6), *B. thuringiensis* (6) et « Anduze » sur le sérum coagulé. L'ensemencement a été fait en trois endroits différents du tube de sérum incliné. Avec les trois souches, nous avons vu, dès vingt-quatre heures, aux trois points ensemencés, la culture s'enfoncer légèrement dans le milieu, montrant ainsi l'attaque partielle, mais nette des sérums par les trois souches, y compris *B. cereus* var. *alesti*.

5° Production de pigment sur milieu à l'œuf.

Nous n'avons pas constaté de production du pigment par *B. thuringiensis*. Avec « Anduze » qui, parfois, sur gélose-haricot peptonée saccharosée donne au bout de quelques jours une culture rouge grenat, la coloration dans la gélose à l'œuf a toujours été faible.

Mais Toumanoff constate lui-même [25] qu'avec la souche de *B. cereus* var. *alesti* la production de ce pigment, presque toujours constante, peut faire défaut sans qu'il puisse d'ailleurs expliquer ces différences. « Sur gélose ordinaire additionnée de jaune d'œuf (XX à XXV gouttes par 10 cm³ de milieu fondu au bain-marie), la production de pigment se révélait parfois très intense, parfois faible et quelquefois nulle », dit-il ; et plus loin

(6) Nous remercions M. Toumanoff de nous avoir donné la souche *B. cereus* var. *alesti* et M. Vago de nous avoir envoyé la souche *B. thuringiensis* qu'il avait reçue de M. Steinhaus.

il parle de « cultures atténuées qui ont perdu leur aptitude à former le pigment ».

Cette production de pigment étant fréquente, mais non constante, il apparaît difficile de considérer ce caractère comme suffisant pour justifier la position de « variété » distincte à la souche *alesti*. Elle aussi semble n'être autre chose qu'un *B. thuringiensis* et, en l'absence de critères sérologiques qui pourraient peut-être faire modifier cette position, nous concluons cet exposé en proposant de simplifier la classification de ces quatre souches, toutes les quatre du groupe du *B. cereus*, toutes les quatre pathogènes pour les insectes, toutes les quatre possédant ces inclusions signalées pour la première fois par Berliner [3], en les désignant toutes les quatre par le nom de la plus ancienne : *Bacillus thuringiensis* Berliner.

Nous pensons que cet organisme doit être considéré comme une véritable espèce et non comme une variété de *B. cereus* car, bien qu'ayant une activité biochimique semblable à celle de *B. cereus*, on peut l'en distinguer facilement et rapidement par les caractères suivants : lorsqu'on examine une culture à l'état vivant, entre lame et lamelle, avec l'objectif à immersion, on constate qu'à vingt-quatre heures les bâtonnets sont plus longs, ils sont plus fréquemment isolés ou en chaînes plus courtes, ils n'ont généralement — lorsqu'ils en ont — que très peu de globules lipidiques, leurs extrémités sont légèrement moins carrées ; lorsque les spores sont formées, elles ne se trouvent que dans la moitié du bâtonnet, l'autre contenant ce très beau cristal d'aspect losangique qu'on ne trouve jamais chez *B. cereus* typique ; les spores sont un peu plus petites que celles de *B. cereus*. Les cultures sur gélose inclinée sont nettement plus minces et ne sont pas complètement opaques à vingt-quatre heures. Les colonies en surface sont beaucoup plus petites, leur diamètre n'atteint souvent pas le quart de celui des autres ; elles sont généralement minces et plates, alors que celles de *B. cereus* sont plus épaisses, et, lorsqu'elles ont une forme conique, l'angle du cône est beaucoup plus ouvert ; observées avec un grossissement de $\times 80$ elles ne présentent pas les belles et grandes ondulations de *B. cereus*, elles n'ont jamais de chaînes de bâtonnets envahissant loin hors de la colonie, ce que l'on trouve fréquemment chez *B. cereus* ; elles ont un bord beaucoup plus régulier et montrent 2 à 4 lignes fines encerclant la colonie sur son bord ; enfin les colonies situées dans la profondeur de la gélose en boîte de Petri ne sont jamais en une grosse touffe rhizoïde d'aspect lâche, mais sont petites, massives, denses, en lentille ou bien avec une petite lentille à l'origine.

De plus, nous n'avons, jusqu'à présent, pas pu trouver de mutant qui, en perdant la virulence, acquière les caractères

morphologiques du *B. cereus* Frankl. et Frankl. Si ce mutant était un jour découvert, il faudrait sans doute reconsidérer cette question.

Résumé.

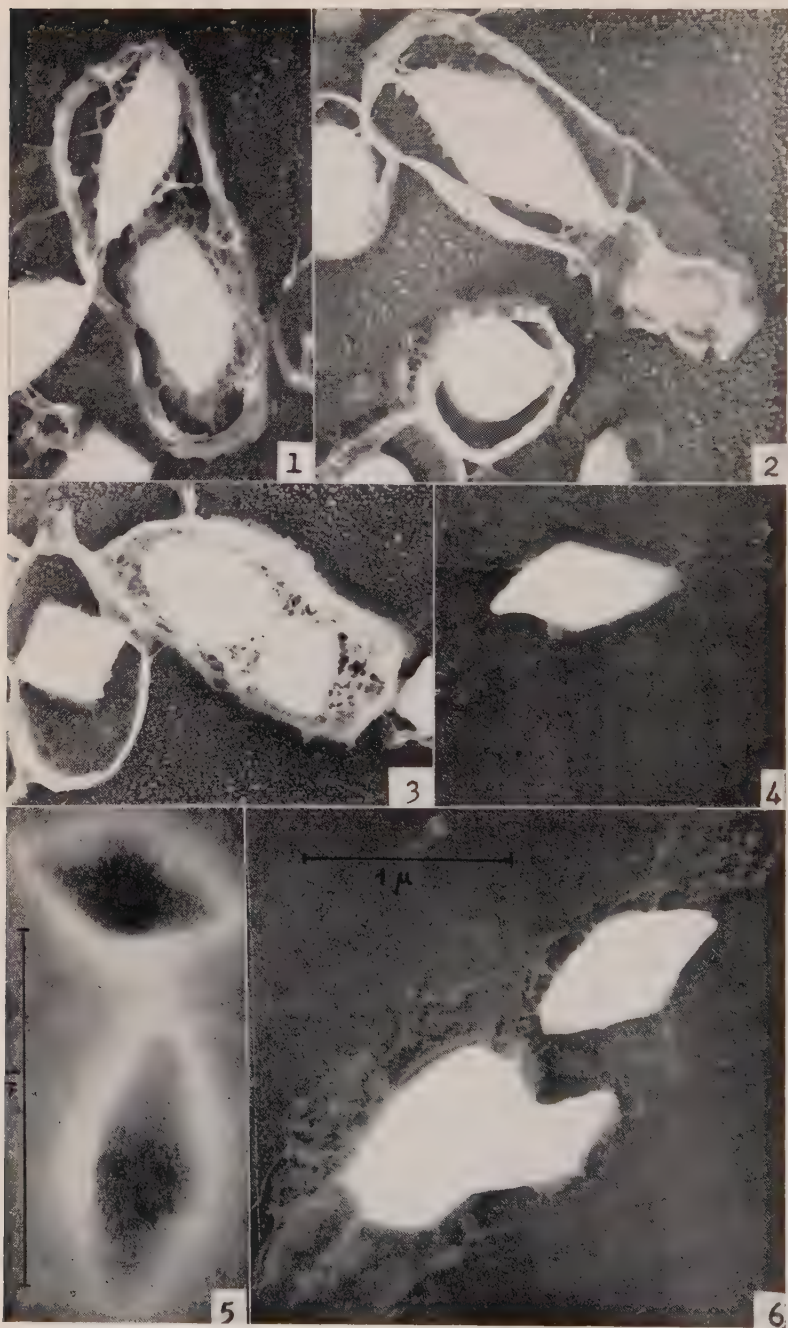
Nous décrivons, dans cet article, la souche « Anduze », pathogène pour certains insectes. Elle doit être considérée comme un *B. thuringiensis*, ainsi que les souches *B. cereus* var. *sotto* et *B. cereus* var. *alesti*.

SUMMARY.

Description of the strain « Anduze » of a *Bacillus* pathogenic for certain insects. The specific name of *Bacillus thuringiensis* is designated to the strain « Anduze », likewise to the strains *B. cereus* var. *sotto* and *B. cereus* var. *alesti*.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] T. A. ANGUS. *Nature*, 1954, **173**, 545.
- [2] A. AOKI et Y. CHIGASAKI. *Mitt. Med. Fak. kaiserl. Univ. Tokyo*, 1915, **13**, 419.
- [3] E. BERLINER. *Z. angew. Ent.*, 1915, **2**, 29.
- [4] V. CHORINE. *Intern. Corn Borer Invest. Sci. Repts*, 1929, **2**, 39.
- [5] T. ELLINGER et V. CHORINE. *Intern. Corn Borer Invest. Sci. Repts*, 1930, **3**, 37.
- [6] J. D. FALDINI et J. A. PASTRANA. *Rev. Argent. Agron.*, 1952, **19**, 154.
- [7] P. GRISON et M^{me} S. BEGUIN. *C. R. Acad. Agricult.*, 1954, **40**, 413.
- [8] C. L. HANNAY. *Nature*, 1953, **172**, 1004.
- [9] A. M. HEIMPEL. *Canadian J. Zool.*, 1955, **33**, 99.
- [10] L. S. MCCLUNG et R. TOABE. *J. Bact.*, 1947, **53**, 139.
- [11] O. MATTES. *Gesell. Beförd. gesamt. Naturw. Sitzber.*, 1927, **62**, 381.
- [12] S. METALNIKOV et V. CHORINE. *Ces Annales*, 1929, **43**, 1391.
- [13] S. METALNIKOV, B. HERGULA et D. M. STRAIL. *C. R. Acad. Sci.*, 1930, **191**, 738.
- [14] S. METALNIKOV, B. HERGULA et D. M. STRAIL. *Ces Annales*, 1931, **46**, 320.
- [15] N. R. SMITH, R. E. GORDON et F. E. CLARK. *U. S. Dept. Agr., Miscell. Publ.*, 1946, n° 559, 112 p.
- [16] N. R. SMITH, R. E. GORDON et F. E. CLARK. *U. S. Dept. Agr., Agr. Monogr.*, 1952, n° 16, 148 p.
- [17] E. A. STEINHAUS. *Hilgardia*, 1951, **20**, 359.
- [18] E. A. STEINHAUS et E. A. JERREL. *Hilgardia*, 1954, **23**, 1.
- [19] C. TOUMANOFF et C. VAGO. *C. R. Acad. Sci.*, 1951, **233**, 1504.
- [20] C. TOUMANOFF. *Ces Annales*, 1952, **82**, 512.
- [21] C. TOUMANOFF et C. VAGO. *Ces Annales*, 1952, **83**, 634.
- [22] C. TOUMANOFF et C. VAGO. *Ces Annales*, 1953, **84**, 623.



- [23] C. TOUMANOFF et P. GRISON. *C. R. Acad. Agricult.*, 1954, **40**, 277.
[24] C. TOUMANOFF, C. VAGO et C. GLADILINE. *Ces Annales*, 1954, **86**, 438.
[25] C. TOUMANOFF. *Ces Annales*, 1954, **87**, 486.

LÉGENDE DE LA PLANCHE

Photographies prises au microscope électronique. Grossissement $\times 27\ 000$, excepté fig. 5, grossissement $\times 47\ 000$.

FIG. 1, 2, 3. — Coupes extra-minces de sporanges après fixation au tétr oxyde d'osmium et inclusion dans le méthacrylate. 1 : Sporange contenant une spore et un cristal coupés longitudinalement. 2 : Coupe oblique de sporange qui ne passe que par le cristal. 3 : les deux cristaux, coupés de manière approximativement transversale par rapport à leur grand axe, montrent une section presque carrée.

FIG. 4. — Cristal isolé. L'ombre du cristal donne quelques indications sur sa forme.

FIG. 5. — Deux cristaux après traitement par la soude à 4 p. 1 000 pendant vingt minutes.

FIG. 6. — Un sporange au stade de la libération de la spore et du cristal. On voit 1 spore et 2 cristaux.

AU SUJET DE SOUCHES CRISTALLOPHORES ENTOMOPHYTES DE *CEREUS*.

OBSERVATIONS SUR LEURS INCLUSIONS CRISTALLINES

par C. TOUMANOFF (*)

[Collaboration technique : M^{lle} M. LAPIED et M^{me} L. MALMANCHE]

(Institut Pasteur. Service de Pathologie des Insectes)

Dans plusieurs communications concernant les bacilles entomophytes du groupe *cereus*, nous avons indiqué — et cela est conforme à la classification des bactéries aérobies sporogènes de Smith, Gordon et Clark [41] — qu'il est opportun, grâce surtout à l'ensemble des caractères qui les rapprochent de *Bacillus cereus* Frank. et Frank. type, de les considérer comme variétés de cette espèce.

Il se trouve toutefois que dans les formes végétatives de quelques *cereus* entomophytes particulièrement toxiques pour les larves de Lépidoptères, existent des inclusions cristallines. Ces inclusions furent pour la première fois observées par Berliner [3] chez un bacille qu'il a dénommé *Bacillus thuringiensis*. Ce bacille fut cependant classé par Smith et al. parmi les *cereus* et désigné sous le nom de *B. cereus* var. *thuringiensis*.

L'attention particulière des chercheurs a été attirée sur ces inclusions de *B. thuringiensis* par Hannay [5], au Canada, à qui revient le mérite d'avoir précisé leurs caractéristiques et suggéré que leur présence est en corrélation avec le rôle pathogène de ce bacille.

Angus signala leur existence dans la souche virulente de *B. cereus* var. *sotto* et apporta les preuves de leur toxicité pour les vers à soie [1, 2].

L'étude des inclusions bacillaires chez *B. thuringiensis* a été faite également par Steinhaus et Jerrel [42] et nous avons pu les déceler chez *B. cereus* var. *alesti*, ainsi que dans quelques autres souches entomophytes, en confirmant leur présence dans la

(*) Société Française de Microbiologie, séance du 6 octobre 1955.

souche de *B. cereus* var. *sotto*, toxique pour les vers à soie, reçue du Japon [14].

Nous avons signalé, en outre, que dans certaines souches de *B. cereus* pathogènes pour les larves de Lépidoptères, les inclusions peuvent faire défaut [15].

Il existe ainsi des souches de *cereus* entomophytes cristallophores et d'autres non cristallophores, les premières ayant une toxicité spéciale pour les larves de Lépidoptères.

Toutefois nous avons établi que toutes les souches de *cereus* cristallophores n'ont pas la même toxicité pour diverses larves de Lépidoptères.

L'inégalité de leur action sur les vers à soie, comme l'ont montré nos expériences avec Vago et nos observations sur d'autres insectes [17, 19, 20], nous ont incité à penser qu'il serait plus prudent de considérer ces souches comme étant des variétés de *cereus*.

Nous avons pu constater d'autre part qu'on peut différencier certaines de ces formes grâce à leurs particularités biochimiques, lorsqu'on s'adresse surtout à des souches cultivées d'une manière permanente sur gélose ordinaire à pH 7. C'est ainsi que *B. cereus* var. *alesti*, que j'ai décrit avec Vago, est caractérisé, comme je l'ai montré plus tard, par la formation dans la suspension de jaune d'œuf d'un pigment (1), et, *B. cereus* var. *sotto* par son action rapide sur le sérum coagulé, attestant ainsi une forte action protéolytique [14].

Toutefois Steinhaus et Jerrel, dans leur publication concernant *Bacillus thuringiensis*, indiquent que dans la future édition du Manuel de Bergey, ce bacille serait classé comme une espèce spéciale et non pas comme une variété de *B. cereus*, grâce à la présence des cristaux dans les formes végétatives de cette variété.

Dans une communication publiée dans ces *Annales*, M^{me} B. Delaporte et M^{me} Béguin ont décrit [4] une souche entomophyte de *B. cereus* isolée par M. Vago des poussières des magna-

(1) Nous avons insisté tout particulièrement sur cette remarquable propriété de *B. cereus* var. *alesti* de former le pigment rouge dans la suspension de jaune d'œuf comme pouvant permettre un contrôle très efficace dans le cas de l'utilisation de ce germe dans la lutte contre les larves de Lépidoptères nuisibles. En effet on saurait toujours, grâce à cette propriété, que seul il possède parmi les *cereus* cristallophores, le reconnaître dans les cadavres desséchés des chenilles. On pourrait le mettre en évidence d'autre part sans difficulté dans tout produit liquide ou en poudre préparé en vue de la lutte bactériologique contre les insectes, ce qui est un avantage indiscutable par rapport à *B. thuringiensis* et aux germes d'existence incertaine capables de produire ce pigment dans la suspension de jaune d'œuf d'une manière inconstante.

neries à Anduze, dans les Cévennes, non loin d'Alès, où existe la flacherie infectieuse des vers à soie due à *B. cereus* var. *alesti*.

En s'inspirant des indications qui sont présentées dans le travail de Steinhäus au sujet de la dénomination de toutes les souches cristallophores sous le nom de *B. thuringiensis*, elles la rapportent à cette espèce en classant comme *thuringiensis* par la même occasion le *B. cereus* var. *alesti*.

Cette communication a retenu notre attention car l'interprétation de certains faits que nous avons énoncés dans nos publications sur *B. cereus* var. *alesti* n'est pas conforme à ce que nous avons décrit. Les auteurs signalent en effet, que d'après nous la formation du pigment par ce germe sur la gélose ordinaire additionnée de jaune d'œuf n'est pas constante, ce qui enlèverait à ce caractère sa valeur de diagnostic. Nous avons indiqué cependant que la formation de ce pigment *est constante* dans la suspension de jaune d'œuf de Mc Clung et Toabe, mais non pas sur le milieu solide utilisé par ces auteurs.

Depuis, nous avons pu établir que le pigment se forme également constamment, mais avec une intensité variable, sur gélose-sérum additionnée de jaune d'œuf.

Le fait que le pigment peut disparaître dans les cultures atténuées est invoqué par les auteurs en question comme un argument témoignant de l'inconstance du caractère, ce qui les autoriserait à assimiler *B. cereus* var. *alesti* à *B. thuringiensis*.

Nous avons, en effet, indiqué en passant que, dans certaines conditions spéciales de culture qui rendent le germe beaucoup moins virulent ou parfois complètement avirulent, le pigment peut disparaître au bout d'un certain nombre de passages, mais nous avons constaté également et ce fait est demeuré inédit, que les inclusions cristallines des *cereus* entomophytes disparaissent également de ces cultures.

L'exposé des auteurs pourrait faire croire, qu'en émettant l'hypothèse, prouvée ensuite expérimentalement avec Vago et Gladiline [18], suivant laquelle la lécithinase de *B. cereus* var. *alesti* est toxique pour les vers à soie, nous nous sommes mis en opposition avec les intéressants travaux des auteurs canadiens sur la substance toxique cristallisée dans les formes végétatives des *cereus* entomophytes.

En relatant l'effet toxique de la lécithinase nous avons dit que « sans vouloir attribuer à cet enzyme un rôle exclusif dans la toxicité de ce germe, nous estimons que la lécithinase doit être retenue comme l'un des facteurs de la toxicité » [18].

En exposant nos conceptions sur l'effet toxique de ces germes pour les insectes nous n'avons pas manqué de souligner l'intérêt des travaux canadiens (Hannay, Angus) sur lesquels nous étions

nous-mêmes les premiers à appeler l'attention des chercheurs de France.

Nous avons même eu l'avantage d'expérimenter cet été à Alès avec Vago l'effet sur les vers à soie des cristaux purifiés ainsi que quelques fractions de protéines isolées sur notre demande de *B. cereus* var. *alesti* par Fitz-James au Canada, et nous avons pu nous convaincre ainsi du rôle toxique important de ces cristaux dont l'étude se poursuit dans ce pays, et qui d'après les recherches de Hannay et Fitz-James confirmées par Angus [2], est une protéine dont le procédé de purification et l'étude biochimique seront relatés par ces auteurs.

Cela n'exclut cependant nullement, comme nous l'avons dit, l'intervention d'autres facteurs dans l'effet pathogène des *cereus* entomophytes et, en ce qui concerne la lécithinase, le récent travail de Heimpel [6] en apporte une confirmation (2).

Quant au germe décrit par Delaporte et Béguin sous le nom de *thuringiensis* souche « *anduze* », il fut isolé par Vago des poussières des magnaneries dans la région des Cévennes. D'après ces auteurs, il se distinguerait d'*alesti* par quelques détails morphologiques que nous n'avons pas pu relever dans des conditions identiques de culture. Il produirait, selon les auteurs, quoique inconstamment, le pigment (que j'ai indiqué comme caractère différentiel d'*alesti*) sur le milieu de Mc Clung et Toabe (3).

D'après leur communication, ces auteurs n'ont pas eu recours à l'ensemencement de leur souche dans les suspensions de jaune d'œuf ; elles ignoraient d'autre part nos constatations inédites suivant lesquelles le pigment est formé par *alesti* constamment sur gélose-sérum au jaune d'œuf.

L'ensemencement de la souche « *anduze* » sur ces milieux appropriés nous a conduit à conclure qu'elle est identique à *alesti*.

(2) L'effet possible d'une lécithinase a été suggéré par moi en juillet 1953 antérieurement aux travaux de Hannay et Angus sur les inclusions cristallines parus respectivement en novembre 1953 et mars 1954 [5, 1].

(3) Nous remercions M. Lemoigne, Chef du Service des Fermentations à l'Institut Pasteur, de nous avoir fait remettre cette souche pour la comparaison avec d'autres *cereus* entomophytes que nous possédons, et notamment *B. cereus* var. *alesti*.

La souche « *anduze* » a été communiquée par M. Vago à M^{lle} Delaporte et M^{me} Béguin d'après leur note, le 10 novembre 1952, alors que la distinction entre *alesti* et d'autres souches, n'avait pas encore été établie.

Nous avons annoncé, en effet, la possibilité de différenciation de cette souche par production de pigment dans la suspension de jaune d'œuf d'autres *cereus* entomophytes, pour la première fois dans une communication parue en 1953 [43], et nous avons insisté tout spécialement sur ce fait en 1954 [45].

L'action sur les glucides est semblable pour trois souches : *thuringiensis*, *alesti* et *sotto* ainsi que pour le germe dénommé *anduze* ; ils fermentent : glucose, lévulose, saccharose et maltose, et sont sans action sur : lactose, galactose, arabinose, mannite, xylose, rhamnose, glycérol, raffinose, sorbite et inosite.

Les autres caractéristiques des trois souches entomophytes comparées à *thuringiensis anduze* sont présentées dans le tableau ci-joint (p. 648 et 649).

Nom des germes	Coloration par le Gram	Dimension des éléments	Gélose ordinaire	Catalase	Lait tournesolé	Petit lait tournesolé	Sérum coagulé	Réduction des nitrates	Hémolyse du sang
<i>B. cereus</i> var. <i>alesti</i>	+	1 à 5 μ	Enduit épais blanc brillant gras	++	Digestion totale avec décoloration du milieu	Aucune modification	9j. après : pas d'action 1 mois : digestion légère	+	+
<i>B. cereus</i> var. <i>sotto</i>	+	2 à 5 μ	Aspect terne cirieux	++	Digestion totale avec décoloration du milieu	Caméléonage très net	1 mois après : digestion totale	+	-
Bouche de <i>cereus</i> dénommée <i>Anduze</i>	+	1 à 5 μ	Culture mince brillante blanc grisâtre	++	Digestion totale avec décoloration du milieu	Très léger virage au rose, sans modification importante	1 mois après : digestion un peu plus importante qu' <i>Alesti</i>	+	+
<i>B. cereus</i> var. <i>thuringiensis</i> souche allemande	+	2,5 à 5 μ	Culture peu brillante épaisse grasse	++	Digestion totale avec décoloration du milieu	Caméléonage très net	1 mois après : digestion à peine visible	+	+

La virulence de la souche *anduze* pour *Pieris brassicae*, sur laquelle insistent les auteurs, est comparable à celle d'*alesti* qui tue dans 100 p. 100 des cas les chenilles de ce Lépidoptère. Nous l'avons mentionné du reste dans une note publiée avec M. Grison qui fut, sur notre demande, associé par l'Institut Pasteur à des recherches sur la lutte biologique par l'utilisation des bactéries, poursuivie dans mon service depuis 1948 [20].

B. cereus var. *alesti*, comme l'ont montré nos expériences, est en outre virulent *per os* pour les larves de divers autres Lépidoptères et notamment *Hyponomeuta cognatella*, *H. padella*, *Malacosoma neustria* et, dans une certaine mesure, pour *Galleria melonella* qui est complètement réfractaire à *B. cereus* var. *thuringiensis* et var. *sotto*.

L'intérêt que présentent les inclusions cristallines des *cereus* entomophytes et l'importance qu'on tend à leur accorder du point de vue de la position taxonomique de ces bacilles, nous incitent à relater ici quelques observations sur le comportement de ces inclusions dans les conditions appropriées de culture que nous avons étudiées depuis la parution du travail de Hannay.

Nous avons cherché à savoir tout d'abord si ces inclusions pouvaient être éliminées des formes végétatives des bacilles qui les portent.

Dans ce but nous avons eu recours d'abord à la production de cultures asporogènes des germes que nous possédons, et nous avons constaté que ces inclusions disparaissaient des formes végétatives de *B. cereus* var. *alesti* et var. *sotto* dans les cultures obtenues par la méthode de Rosenthal [9] légèrement modifiée.

Gélose glucosée au rouge neutre	Pomme de terre	Suspension jaune d'oeuf	Acétyl- méthyl- carbinol	Lécithinase	Gélose or- dinaire au jaune d'oeuf	Gélose au sérum au jaune d'oeuf	liquéfac- tion de la gélatine	Production de SPZ	Production d'indol
9 j.: pas de fluorescence pas de dicolouration sensible	Culture grasse brillante rouge- brique	Blanchiment durcisse- ment, pigment rouge	+	+	Blanchiment pigment + ou -	Blanchiment pigment rouge	A 30° liquéfac- tion totale le 4e jour	-	-
Légère flu- orescence verte sans virage au jaune	Culture terne, blanc- grisâtre	Blanchiment durcisse- ment pas de pigment	+	+	Blanchiment pas de pigment	Blanchiment pas de pigment	Liquéfac- tion totale en 24 h.	-	-
Virage total au jaune avec légère fluorescen- ce verte	Culture grasse brillante rouge- brique	Blanchiment durcisse- ment pigment rouge	+	+	Blanchiment pigment +	Blanchiment pigment +	A 30° liquéfac- tion totale en 3-4 jours	-	-
Virage léger sans produc- tion de gaz	Culture brillante épaisse sans pig- ment	Blanchiment durcisse- ment pas de pigment	+	+	Blanchiment pas de pigment	Blanchiment pas de pigment	A 30° liquéfac- tion totale en 4 jours	-	-

Cette disparition se produit au bout de 5 à 6 passages par filtrats, parfois plus tard, mais, devenues asporogènes, les cultures ne contenaient plus de cristaux.

Ces cultures resporulaient rarement et très faiblement comparativement aux souches normales et, même dans ce cas, elles ne reformaient plus ni cristaux, ni pigment.

D'autre part, en cultivant *B. cereus* var. *alesti* sur gélose à pH 9-9,5, nous avons constaté que ce germe pouvait perdre, après une trentaine de passages également, ses cristaux tout en continuant à former les spores (4).

Sur trois essais de passages de *B. cereus* var. *alesti* sur gélose à pH 9-9,5, nous avons obtenu dans un cas seulement, après le trente et unième passage, la disparition totale des cristaux sans réapparition ultérieure après retour sur milieu à pH 7 ; dans un cas sur deux autres, qui fut contrôlé, ces inclusions disparurent

(4) Les mesures du pH des milieux de culture ont été effectuées par les soins du service de M. Sandor à qui nous tenons à exprimer notre reconnaissance.

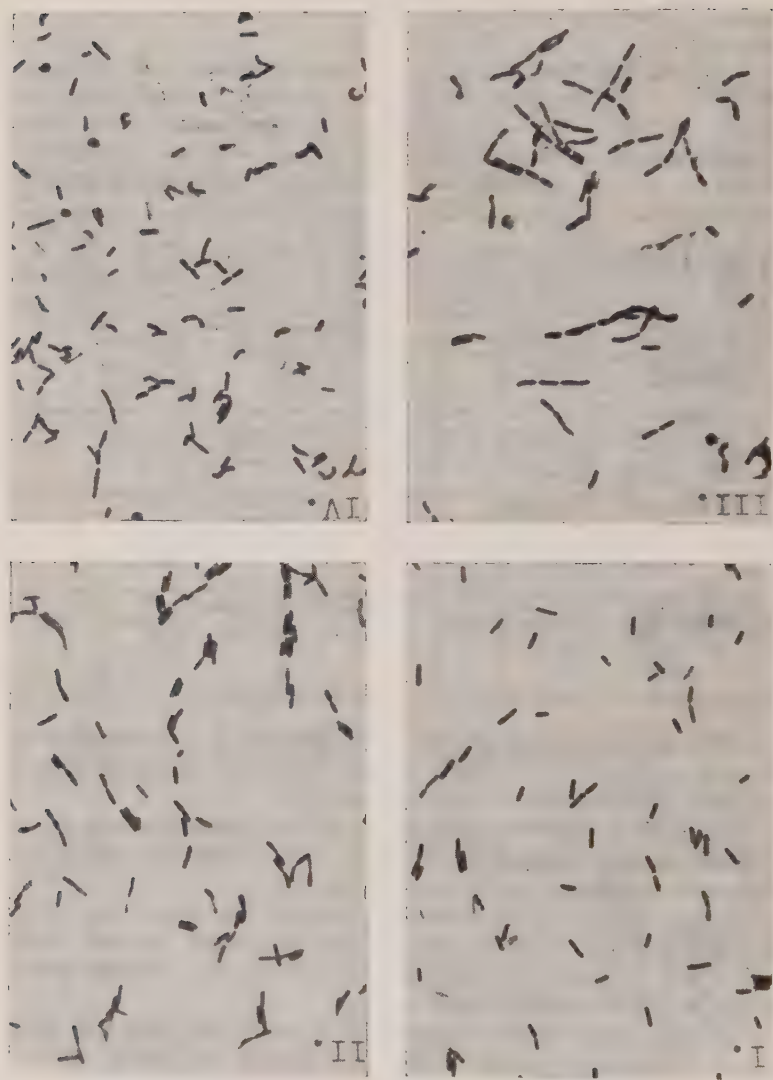


FIG. 1. — I. *B. cereus* var. *alesti*, culture de vingt-quatre heures ; II. Souche « anduze », culture de vingt-quatre heures ; III. *B. cereus* var. *alesti*, culture de cinq jours ; IV. Souche « anduze », culture de cinq jours.

au bout du vingt-sixième passage et n'existaient plus jusqu'au trente-cinquième passage.

Cette dernière culture, même lorsque les cristaux y faisaient défaut, demeurait toxique pour les vers à soie quoique bien moins que les cultures normales. Les cristaux réapparurent cependant dans les formes végétatives après repiquage sur gélose neutre.

On peut donc faire disparaître les cristaux de *cereus* entomophytes, soit en ayant recours à des cultures asporogènes, soit parfois mais inconstamment en cultivant ces bacilles sur gélose fortement alcaline, et cela sans qu'ils réapparaissent lorsqu'ils sont cultivés ensuite sur gélose ordinaire à pH 7.

La plupart des souches de *cereus* entomophytes cristallophores attestent cependant, et plus particulièrement *B. cereus* var. *alesti*, une stabilité remarquable lorsqu'elles sont cultivées après leur isolement sur gélose ordinaire neutre.

Nous avons aussi cherché à connaître si ces cristaux peuvent réapparaître dans les cultures rendues asporogènes (5).

Dans ce but, nous avons effectué l'injection de suspensions de ces cultures aux insectes qui se prêtent tout particulièrement à ces expériences, les chenilles de *Galleria melonella* qu'on peut avoir en grande quantité.

Nous avons pu établir ainsi que les bacilles asporogènes (*B. cereus* var. *alesti* et var. *sotto*) injectés à dose mortelle resporulaient dans les cadavres des chenilles mortes et, qu'isolés de ces insectes, ils devenaient cristallophores, soit après un seul, soit après plusieurs passages.

Les souches cristallophores ainsi obtenues se sont montrées toxiques et pathogènes *per os* pour les vers à soie, mais leur virulence pour ces insectes était plus faible que celle de *B. cereus* var. *alesti* qui avait servi à l'obtention des cultures asporogènes. Ces souches ne reformaient pas, d'autre part, le pigment caractérisant la souche *alesti* normale, mais produisaient le blanchiment du jaune d'œuf.

Ces essais nous font penser que les cristaux, qui sont apparus dans ces cultures, ne sont pas de même nature que ceux qui ont été éliminés de la culture de *B. cereus* var. *alesti* au cours du traitement pour l'obtention de l'asporogénie.

Etant donné que les cultures asporogènes, après leur passage

(5) Nous définissons comme asporogènes les cultures qui sont tuées par chauffage à 80° C après une heure et ne contiennent pas apparemment de spores à l'examen microscopique. Cette définition est donnée sous réserve d'une suppression parfois temporaire de la sporogénèse. La réalisation de ce type de cultures a exigé, pour les souches entomophytes de *cereus*, plus de quarante passages par filtrats selon le procédé de Rosenthal.

par *Galleria* tout en redevenant sporogènes et cristallophores, n'exerçaient plus le même effet pathogène sur les vers à soie, on peut admettre que les nouvelles inclusions cristallines sont en rapport avec le passage sur un autre insecte (6).

Il semble aussi que les cristaux, qui sont apparus dans le corps des bacilles, ne sont pas des constituants normaux de leur cytoplasme.

Ce qui ressort nettement, c'est que les inclusions cristallines protéiques des *cereus* entomophytes se comportent comme une matière, qui une fois apparue dans les corps bacillaires à la suite de passage par le sang de l'insecte s'y maintient dans des conditions appropriées de culture.

Le fait que les souches entomophytes des *cereus* peuvent être amenées à perdre leurs cristaux sans les reformer par la suite, ne permet pas d'accorder à ces inclusions cristallines une valeur taxonomique absolue.

On est ainsi conduit à penser que les souches cristallophores de *cereus* ne sauraient être considérées comme faisant partie d'une espèce spéciale *B. thuringiensis*, mais bien comme des variétés ou souches de *B. cereus* pourvues d'inclusions cristallines différentes.

En ce qui concerne *B. cereus* var. *alesti* chez lequel la présence de ces inclusions cristallines atteste une stabilité remarquable dans les cultures sur gélose ordinaire neutre et s'accompagne en plus de l'aptitude à former constamment le pigment sur les milieux appropriés, cette variété ne saurait être confondue avec une autre forme de *cereus* cristallophore actuellement connue.

La variété *alesti* se différencie également de ces autres formes de *cereus* par son effet pathogène quasi-universel pour les larves des divers Lépidoptères, ainsi que nous l'avons déjà indiqué antérieurement [19, 20], la toxicité des autres *cereus* cristallophores étant variable selon les hôtes.

RÉSUMÉ.

La souche cristallophore de *cereus* entomophyte provenant des poussières des magnaneries et dénommée *Bacillus thuringiensis* souche *anduze* [4] est identique à l'agent pathogène de la flacherie infectieuse des vers à soie antérieurement décrite sous le nom de *B. cereus* var. *alesti* Toum. et Vago. La réunion de toutes les

(6) Notons que l'injection à *Galleria* d'eau physiologique sous le même volume que les suspensions bactériennes n'a jamais provoqué la pullulation des bactéries aérobies sporogènes dans leur cavité générale. La flore bactérienne intestinale de *Galleria* est, du reste, très pauvre et ne comporte en général qu'un streptocoque décrit par Chorine [10].

souches cristallophores de *cereus* sous la dénomination de *B. thuringiensis*, est sujette à caution, pour les raisons invoquées dans ce travail.

Les observations concernant la suppression et la réapparition des inclusions cristallines de *cereus* entomophytes sont relatées dans cette étude.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] T. A. ANGUS. *Nature*, 1954, **173**, 545.
- [2] T. A. ANGUS. *Dept. Agr. Sc. Serv. Biol. Div. Canada*, Bimonthly report, 1954, **10**, 2.
- [3] E. BERLINER. *Zeitschr. angew. Ent.*, 1915, **2**, 29.
- [4] B. DELAPORTE et BÉGUIN. *Ces Annales*, **89**, 632.
- [5] C. L. HANNAY. *Nature*, 1953, **172**, 1004.
- [6] A. M. HEIMPEL. *Cand. J. Zool.*, 1955, **33**, 99.
- [7] O. MATTES. *Gesell. Bëford. ges. Naturw. Sitz.*, 1927, **62**, 381.
- [8] MC CLUNG et R. TOABE. *J. Bact.*, 1947, **53**, 139.
- [9] L. ROSENTHAL. *C. R. Soc. Biol.*, 1926, **95**, 445.
- [10] V. CHORINE. *Ces Annales*, 1927, **41**, 1114.
- [11] N. SMITH, R. E. GORDON et F. E. CLARK. *Aerobic sporeforming Bacteria*, Agr. monogr., n° 16, Washington, 1952.
- [12] E. STEINHAUS et E. A. JERREL. *Hilgardia*, 1954, 23.
- [13] C. TOUMANOFF. *Ces Annales*, 1953, **85**, 90.
- [14] C. TOUMANOFF. *Ces Annales*, 1955, **88**, 384.
- [15] C. TOUMANOFF. *Ces Annales*, 1954, **87**, 486.
- [16] C. TOUMANOFF et C. VAGO. *Ces Annales*, 1952, **83**, 634.
- [17] C. TOUMANOFF et C. VAGO. *Ces Annales*, 1955, **88**, 388.
- [18] C. TOUMANOFF, C. VAGO et C. GLADILINE. *Ces Annales*, 1954, **86**, 438.
- [19] C. TOUMANOFF. *Ces Annales*, 1954, **86**, 570.
- [20] C. TOUMANOFF et P. GRISON. *C. R. Ac. Agr.*, 1954, **40**, 277.
- [21] C. TOUMANOFF et C. VAGO. *C. R. Acad. Sci.*, 1951, **233**, 1504.

**ÉTUDE DE LA DÉGRADATION
DE LA SÉRUMALBUMINE HUMAINE
PAR UN EXTRAIT DE RATE DE LAPIN**

**II. — MISE EN ÉVIDENCE DE TROIS GROUPEMENTS
SPÉCIFIQUES DIFFÉRENTS DANS LE MOTIF ANTIGÉNIQUE
DE L'ALBUMINE HUMAINE ET DE TROIS ANTICORPS
CORRESPONDANTS DANS LE SÉRUM DE LAPIN
ANTI-ALBUMINE HUMAINE (*).**

par CLAUDE LAPRESLE (**).

(*Institut Pasteur, Service de Chimie Microbienne*)

L'objet de ce travail est l'étude immunologique de la dégradation d'un antigène protéidique, la sérumalbumine humaine, par les protéases endocellulaires vraisemblablement responsables de sa dégradation *in vivo*.

Nous avons utilisé comme préparation enzymatique un extrait de rate de lapin, la rate étant un des organes riches en cellules les plus incriminées dans la dégradation de l'antigène. L'établissement préalable des conditions optimum d'activité et l'étude du mode d'action d'un tel extrait font l'objet de la première partie de ce travail [12].

Nous avons en vue ici l'étude immunochimique de la dégradation de l'albumine humaine dans ces conditions et, en particulier, la mise en évidence grâce à elle des groupements spécifiques constitutifs du motif antigénique de l'albumine humaine et d'anticorps correspondants dans le sérum de lapin anti-albumine humaine.

MATÉRIEL.

L'antigène et la préparation enzymatique sont les mêmes que ceux décrits dans la première partie de ce travail [12].

Nous avons utilisé comme sérum anti-albumine des solutions de γ -globulines de lapins immunisés contre l'albumine humaine.

(*) Manuscrit reçu le 24 août 1954.

(**) Attaché de Recherches à l'Institut National d'Hygiène et boursier du Fonds d'Etudes de la Société Médicale des Hôpitaux de Paris.

L'albumine humaine, adsorbée sur alumine, est injectée par voie intraveineuse à 6 lapins. Les injections sont faites quatre fois par semaine, à vingt-quatre heures d'intervalle, pendant trois semaines. La quantité d'albumine par injection est de 1 mg la première semaine, 2 mg la deuxième semaine, 4 mg la troisième semaine. Les lapins sont saignés à blanc huit jours après la dernière injection et leurs sérums sont mélangés. Afin d'obtenir un taux d'anticorps élevé, les γ -globulines sont précipitées par le sulfate d'ammonium au 1/3 de saturation, remises en solution dans un petit volume d'eau bidistillée, puis dialysées contre de l'eau physiologique jusqu'à élimination complète du sulfate d'ammonium. Plusieurs solutions de γ -globulines (désignées dans ce travail sous le nom de sérum anti-albumine) ont été ainsi préparées et conservées en présence de merthiolate de soude au 1/10 000.

MÉTHODES.

MODE OPÉRATOIRE. — La dégradation de l'albumine a été conduite comme dans les expériences avec l'électrophorèse sur papier de la première partie de ce travail [12]. L'extrait de rate de lapin, préparé à 20 p. 100, est dilué au 1/10 dans le tampon de Michaelis (véronal-acétate de soude) à pH 3. L'albumine est mise en solution à 2 p. 100 dans l'eau physiologique. On mélange dans des tubes 0,5 ml d'extrait de rate, 0,5 ml d'albumine, 1 goutte de chloroforme. Les concentrations finales d'extrait de rate et d'albumine sont donc de 1 p. 100 environ. Les tubes sont bouchés et placés au bain-marie à 37°. A la fin de la digestion le milieu est neutralisé par addition de 1 goutte de soude N, clarifié par centrifugation et conservé à la glacière après addition de 1 goutte de merthiolate de soude à 0,2 p. 100. Simultanément des tubes sont préparés de la même façon, mais avec un extrait de rate préalablement inactivé par chauffage à 60° pendant trente minutes. Ce sont ces échantillons, conservés quarante-huit heures à pH 3 et à 37°, qui sont désignés dans ce travail sous le nom d'albumine témoin.

Nous avons ainsi étudié le mélange extrait de rate-albumine après digestion par les méthodes suivantes :

PRÉCIPITATION SPÉCIFIQUE EN MILIEU GÉLIFIÉ. — Nous avons utilisé la méthode de double diffusion d'Ouchterlony [16], modifiée de façon à pouvoir étudier simultanément un grand nombre d'échantillons [9]. Le sérum anti-albumine utilisé précipitait environ 1 mg d'albumine par millilitre au point d'équivalence.

PRÉCIPITATION SPÉCIFIQUE QUANTITATIVE D'HEIDELBERGER ET KENDALL [4]. — Les courbes I et II ont été faites avec 0,4 ml de

sérum et une quantité croissante d'antigène dans un volume constant de 0,2 ml. Les courbes III et IV ont été faites avec 0,2 ml de sérum et une quantité croissante d'antigène dans un volume constant de 0,2 ml. Les courbes ont été faites en duplicata. Les surnageants des duplicata correspondant à chacun des points des courbes ont été mélangés pour être testés en milieu gélifié avec le sérum et l'antigène. L'ordre des surnageants dans les plaques de gélose correspond aux points successifs des courbes.

IMMUNOÉLECTROPHORÈSE SELON LA TECHNIQUE DE GRABAR ET WILLIAMS [3]. — Les immunoélectrophorèses ont été faites dans les conditions suivantes : quantité de liquide à analyser : environ 0,01 ml ; tampon véronal pH : 8,2 ; μ : 0,05 dans les bacs et 0,025 dans la gélose ; V/cm : 4 ; I : 65 mA ; durée : six heures.

ELECTROPHORÈSE EN GÉLOSE COLORÉE SELON LA TECHNIQUE D'URIEL ET SCHEIDEGGER [47]. — L'électrophorèse est faite simultanément et dans les mêmes conditions que l'immunoélectrophorèse. La révélation est faite par le bleu de bromophénol en solution aqueuse à 0,1 p. 100 après fixation par l'alcool à 60 p. 100 dans l'acide acétique à 2 p. 100.

RÉSULTATS.

1° PRÉCIPITATION SPÉCIFIQUE EN MILIEU GÉLIFIÉ. — La planche I, figure 1, montre l'aspect de la ligne de précipitation formée en milieu gélifié par l'albumine au cours de sa dégradation, et le sérum anti-albumine. La ligne *a* correspond à une impureté d' α -globuline. Nous ne l'avons observée qu'avec cet échantillon de sérum. La ligne A, correspondant à l'albumine, se divise en trois lignes distinctes dénommées *a*, *b*, *c* suivant leur ordre d'apparition et leurs intensités décroissantes. Les lignes *a* et *b* sont visibles après vingt-quatre heures de dégradation. La ligne *c* est visible après quarante-huit heures de dégradation. Ces lignes s'observant pour des concentrations d'antigène et d'anticorps très variables et, en particulier, dans le cas de la planche I, figure 1 pour un excès considérable d'antigène (environ dix fois la quantité correspondant au point d'équivalence), il est très peu probable que chacune d'entre elles corresponde à plus d'un système précipitant. L'albumine non dégradée (OH et T) forme donc avec le sérum anti-albumine un système précipitant et l'albumine dégradée pendant quarante-huit heures trois systèmes précipitants.

2° PRÉCIPITATION SPÉCIFIQUE QUANTITATIVE. — Les études quantitatives conduisent aux mêmes conclusions.

La courbe I (fig. 1) obtenue avec l'albumine témoin est caractéristique de l'existence d'un seul système précipitant. Elle est

régulière, présente un sommet net et la solubilisation du précipité dans la zone d'excès d'antigène est pratiquement complète. L'étude des surnageants (pl. I, fig. 2) montre, en effet, l'existence d'une zone étroite d'équivalence et d'une seule ligne de précipitation dans la zone d'excès d'antigène.

La courbe II (fig. 1) obtenue avec l'albumine dégradée pendant quarante-huit heures fait suspecter au contraire l'existence de

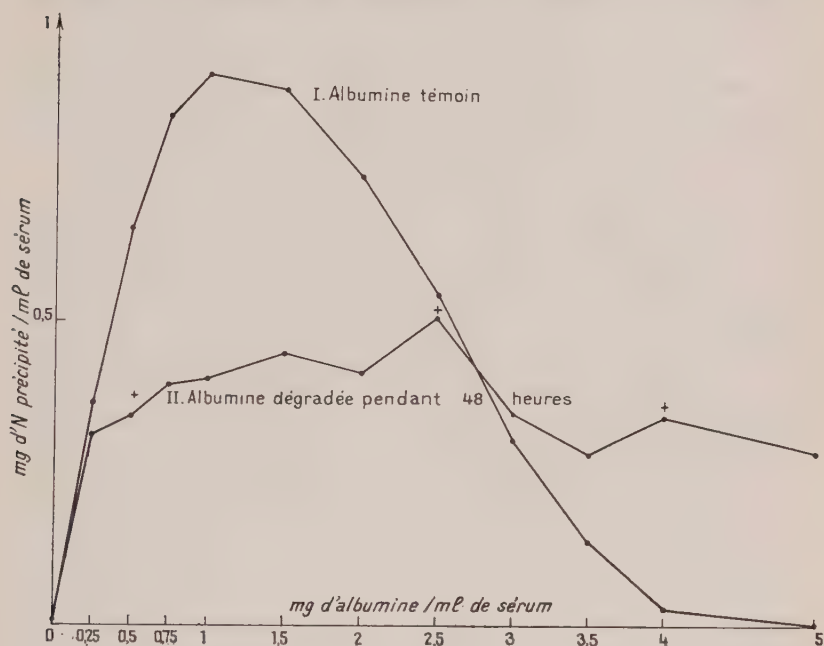


FIG. 1.

plusieurs systèmes précipitants. Elle est irrégulière, aplatie et la précipitation se poursuit dans la zone d'excès d'antigène, la courbe II croisant ainsi la courbe I. L'étude de ses surnageants (pl. I, fig. 2) révèle effectivement l'absence de zone d'équivalence, remplacée par une zone intermédiaire où les surnageants réagissent à la fois avec l'antigène et l'immunsérum, et l'apparition successive de trois lignes de précipitation dans la zone d'excès d'antigène.

L'importante différence constatée dans la quantité totale de précipité entre les deux courbes, alors que tous les anticorps anti-albumine ont été précipités dans les deux cas, a la même signification. En effet, la quantité beaucoup moins grande de pré-

rapide obtenue avec l'albumine dégradée, presque deux fois moins, ne peut être due au fait que le serum anti-albumine ne précipite dans ce cas qu'une partie de la molécule d'albumine, car la proportion d'azote fournie par l'antigène dans l'azote du précipité spécifique est trop faible pour rendre compte d'une telle différence. Elle ne peut s'expliquer que par la solubilisation successive en excès d'antigène des trois systèmes précipitants en présence dans le cas de l'albumine dégradée. On peut constater d'ailleurs que les surnageants (marqués d'une croix, pl. I, fig. 2) de la courbe II, où apparaît un net excès de chacun des trois antigènes, correspondent sur cette courbe II aux trois accidents (marqués d'une croix, fig. 1) les plus significatifs et représentant respectivement les maximum de trois courbes théoriques dont la somme constitue la courbe observée.

Pour mieux étudier la zone d'excès d'anticorps, nous avons refait ces courbes quantifiées avec un serum beaucoup plus riche en anticorps, de façon à avoir dans les surnageants, compte tenu de la dilution avec l'antigène, une quantité suffisante d'anticorps. Les courbes ainsi obtenues, courbe III avec l'albumine témoin et courbe IV avec l'albumine dégradée pendant quarante-huit heures, reproduisent (fig. 2) l'aspect initial et le croisement des courbes I et II. L'étude de leurs surnageants (pl. II, fig. 3) confirme : a) dans le cas de l'albumine témoin, l'existence d'une zone d'équivalence et d'une seule ligne de précipitation dans la zone d'excès d'antigène (I) ; b) dans le cas de l'albumine dégradée, l'absence de zone d'équivalence et l'apparition successive dans la zone d'excès d'antigène de plusieurs lignes de précipitation (deux seulement ici du fait du déplacement des points d'équivalence).

Mais surtout l'étude des surnageants des courbes III et IV montre (pl. II, fig. 3) une seule ligne de précipitation dans la zone d'excès d'anticorps de la courbe III obtenue avec l'albumine témoin et deux lignes de précipitation disparaissant l'une après l'autre dans la zone d'excès d'anticorps de la courbe IV obtenue avec l'albumine dégradée pendant quarante-huit heures.

Nous avons enfin testé avec l'albumine dégradée les surnageants des courbes I et III obtenues avec l'albumine témoin et testé avec l'albumine témoin les surnageants des courbes II et IV obtenues

(1) Le déboullement de cette ligne au niveau de deux des bassins de surnageants ne traduit pas l'existence de deux systèmes précipitants puisqu'il disparaît avec l'augmentation de la quantité d'antigène dans les surnageants. C'est un exemple de ces déboullements non spécifiques sur la possibilité desquels l'attention a été attirée récemment [1, 15] et que nous n'avons d'ailleurs observé que dans cette seule expérience.

avec l'albumine dégradée. On voit ainsi (pl. I, fig. 2 et pl. II, fig. 3) que le sérum anti-albumine ne réagit plus avec l'albumine dégradée une fois épuisé par l'albumine témoin et, inversement, ne réagit plus avec l'albumine témoin une fois épuisé par l'albumine dégradée. Les trois groupements spécifiques de l'albumine dégradée sont donc non seulement des constituants, mais encore, semble-t-il, les seuls constituants du motif antigénique de l'albumine.

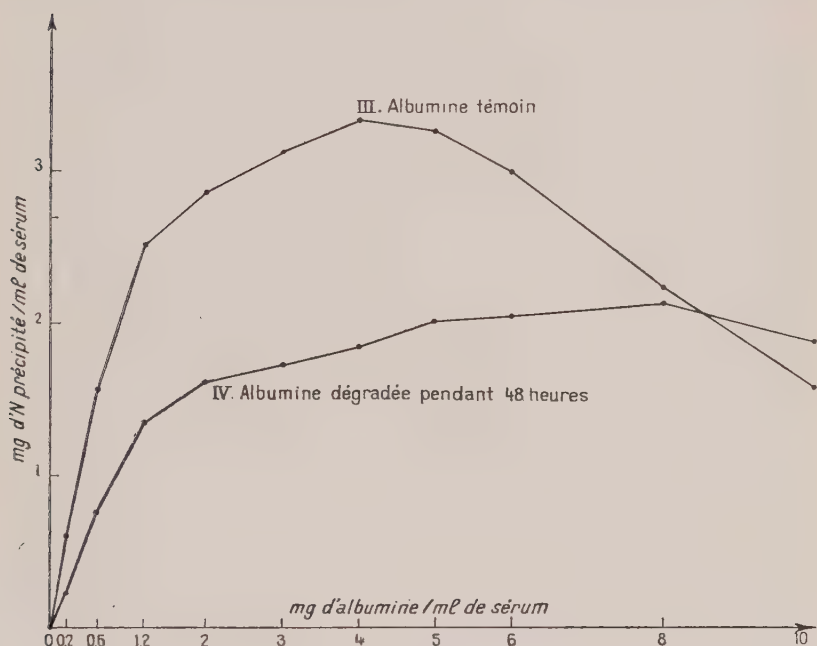


FIG. 2.

mine humaine. Ce fait était déjà suggéré par la coalescence parfaite en double diffusion (pl. I, fig. 1) des lignes *a*, *b*, *c* et de la ligne formée par l'albumine non dégradée (OH et T). De même l'anticorps anti-albumine n'est fait que du mélange des trois anticorps réagissant avec l'albumine dégradée. Ces trois anticorps sont, en outre, épuisés l'un après l'autre par l'albumine témoin, comme le montre (pl. II, fig. 1) l'étude avec l'albumine dégradée des surnageants de la courbe III obtenue avec l'albumine témoin.

3° IMMUNOÉLECTROPHORÈSE ET ÉLECTROPHORÈSE EN GÉLOSE DE L'ALBUMINE. — Nous avons étudié simultanément par immuno-

électrophorèse et électrophorèse en gélose (pl. III, fig. 5) l'albumine humaine au cours de sa dégradation en nous servant pour l'immunoélectrophorèse du même sérum anti-albumine que pour l'établissement des courbes I et II.

L'étude immunoélectrophorétique confirme la formation par l'albumine dégradée et le sérum anti-albumine de trois lignes de précipitation distinctes *a*, *b*, *c*, qui paraissent correspondre à celles observées sur la figure 1, d'après leur ordre d'apparition, leurs positions respectives à partir de la source d'antigène et leurs intensités. La ligne formée par l'albumine témoin (T), si elle est légèrement modifiée, plus allongée que celle de l'albumine initiale (OH), reste cependant unique et a la même mobilité que celle de l'albumine initiale. La formation des trois lignes *a*, *b*, *c* est donc bien liée à la dégradation enzymatique et non à une dénaturation de l'albumine du fait des conditions expérimentales, pH en particulier.

Les trois lignes *a*, *b*, *c* ont d'autre part une série de caractéristiques qui permettent de les identifier et de les interpréter encore plus sûrement que par les méthodes précédentes : 1° elles apparaissent ensemble après vingt-quatre heures de dégradation ; l'absence de ligne *c*, à ce stade en double diffusion (pl. I, fig. 1) est donc due à sa superposition avec la ligne *a* ; 2° elles ont des mobilités différentes les unes des autres, ce qui montre qu'elles sont formées par des fractions différentes du point de vue électrophorétique et élimine formellement la possibilité, peu vraisemblable déjà du fait des résultats de la précipitation quantitative, qu'elles soient dues à des précipitations périodiques non spécifiques étudiées récemment [4, 18] ; 3° elles ont des mobilités différentes de celles de l'albumine non dégradée (*a* et *b* sont plus rapides, *c* est plus lente). Aucune d'entre elles ne correspond donc à l'albumine initiale ; 4° les lignes *a*, *b* et *c* sont indépendantes les unes des autres. Ce fait, évident en ce qui concerne les lignes *a* et *b*, est moins net en ce qui concerne les lignes *a* et *c*, mais a pu être mis en évidence de façon indiscutable dans d'autres expériences immunoélectrophorétiques dont nous ne reproduisons pas ici les photographies. Les constituants *a*, *b*, *c* semblent donc n'avoir aucune parenté immunologique ou en d'autres termes ne donner entre eux aucune réaction croisée.

La comparaison enfin de l'immunoélectrophorèse et de l'électrophorèse en gélose permet d'identifier *a*, *b* et *c* parmi les différents produits de dégradation de l'albumine. L'électrophorèse en gélose, en effet, confirmant à cet égard l'électrophorèse sur papier [12], montre qu'au cours de la dégradation de l'albumine, la tache formée par celle-ci se modifie, devient plus étalée et plus rapide et qu'il apparaît des produits de mobilités plus lentes, migrant vers la cathode. Elle montre de plus que la tache d'albumine

devient hétérogène et se dédouble en deux taches distinctes. Sa comparaison avec l'immunoélectrophorèse montre que les trois lignes *a*, *b*, *c* ne correspondent pas à l'ensemble des produits de dégradation de l'albumine, mais seulement à ceux dont les mobilités sont les plus rapides et les plus voisines de celle de l'albumine non dégradée.

4° IMMUNOÉLECTROPHORÈSE DU SÉRUM ANTI-ALBUMINE. — L'immunoélectrophorèse permettant de mettre en évidence des écarts de mobilité très faibles entre des anticorps différents [19], nous avons étudié par cette méthode les anticorps anti-albumine en faisant migrer le sérum anti-albumine et en le faisant réagir avec l'albumine témoin et l'albumine dégradée pendant quarante-huit heures. Nous avons utilisé le même sérum anti-albumine que pour l'établissement des courbes III et IV. La planche II, figure 4 montre que les trois lignes formées par l'albumine dégradée sont légèrement décalées les unes par rapport aux autres, de plus en plus lentes à mesure qu'on s'éloigne du bassin d'antigène (en gélose, dans nos conditions opératoires, les γ -globulines migrent vers la cathode). Les différences de mobilité que révèle ici l'immunoélectrophorèse sont beaucoup plus discrètes que dans le cas des antigènes. Elles sont surtout apparentes par la comparaison des extrémités antérieures des trois lignes de précipitation, leurs sommets étant plus difficiles à déterminer.

DISCUSSION.

L'ensemble des résultats que nous venons de rapporter montre que le motif antigénique de l'albumine humaine, responsable de sa précipitation par un sérum anti-albumine, comporte trois groupements spécifiques différents *a*, *b*, *c* correspondant à des produits de dégradation de l'albumine n'ayant pas les mêmes mobilités électrophorétiques. Nous avons vu de plus que ces trois groupements spécifiques sont apparemment les seuls qui existent dans ce motif antigénique. On doit donc s'attendre à ce qu'une dégradation plus poussée ne puisse en mettre d'autres en évidence. Par contre, il n'est pas théoriquement impossible qu'une telle dégradation ne fasse apparaître à son tour l'hétérogénéité de l'un ou de plusieurs des trois groupements spécifiques que nous avons identifiés. Ceci est cependant peu vraisemblable avec notre préparation enzymatique, puisque, les trois lignes *a*, *b*, *c* étant visibles après vingt-quatre heures de dégradation, aucune nouvelle ligne n'apparaît dans les vingt-quatre heures suivantes, alors que la dégradation s'est poursuivie durant cette période [12]. A ces groupements spécifiques de l'albumine humaine correspondent d'autre part dans le sérum de lapin anti-albumine trois

anticorps distincts individualisés non seulement par leurs spécificités immunologiques, mais aussi, semble-t-il, par des différences discrètes de mobilité électrophorétique.

Le fait que la spécificité d'un antigène soit liée ainsi à la présence de groupements spécifiques multiples auxquels correspondent des anticorps distincts est admis depuis longtemps. Suggéré déjà par l'étude des réactions croisées [6, 15], il a été démontré essentiellement par les travaux sur les antigènes artificiels [13]. Cependant, le dénombrement et l'identification des groupements spécifiques d'un antigène naturel n'avait pas été jusqu'ici possible. De plus, cette hétérogénéité des anticorps vis-à-vis d'une molécule d'antigène avait été plus souvent envisagée comme résultant du mélange d'anticorps de spécificité similaire, mais plus ou moins bien adaptée au motif antigénique de l'antigène, que comme résultant du mélange d'anticorps de spécificités complètement différentes les unes des autres. C'est néanmoins ce deuxième cas qui est réalisé dans nos expériences et qui rend compte des systèmes de réactions croisées formées par l'albumine entière avec ses produits de dégradation (pl. I, fig. 1).

L'existence d'anticorps différents, correspondants aux groupements spécifiques multiples d'un antigène, a d'autre part été invoquée par Jennings pour expliquer la formation éventuelle en milieu gélifié de plus d'une ligne de précipitation par un seul système précipitant [8]. Nos expériences, et en particulier l'étude comparative (pl. II, fig. 3) avec l'albumine témoin et l'albumine dégradée des surnageants des courbes III et IV montrent que ce fait ne se produit que si l'albumine a été préalablement dégradée, c'est-à-dire à condition que les groupements spécifiques en cause ne soient plus portés par la molécule d'antigène initiale, mais par des fractions de cette molécule indépendantes les unes des autres. Il n'est pas impossible d'ailleurs que cette éventualité ait été réalisée dans certaines des expériences de Jennings, comme le souligne lui-même cet auteur [7].

Par ailleurs, une des caractéristiques essentielles de la préparation enzymatique que nous avons utilisée est de ne faire subir à la molécule d'albumine qu'une dégradation relativement peu importante, se traduisant par la rupture d'un nombre très faible de liaisons peptidiques et aboutissant à la formation de produits intermédiaires de dégradation hétérogènes [12]. Ceux-ci se répartissent du point de vue électrophorétique en deux groupes : l'un formé de peptides de mobilités voisines de celle de l'albumine et se révélant surtout par les modifications de la tache d'albumine qu'ils entraînent, l'autre formé de peptides de migration plus lente. Nous avons vu que les groupements *a*, *b*, *c*, responsables de la précipitation de l'albumine humaine, correspondaient aux produits de dégradation du premier groupe. Ce fait suggère que

leurs structures sont relativement proches de celle de l'albumine et qu'ils sont formés par les produits initiaux de sa dégradation. Les peptides de mobilité plus lentes, qui ne précipitent pas avec le sérum anti-albumine, correspondent, soit à une portion de la molécule d'albumine ne participant pas à la constitution de son motif antigénique, soit à des produits de dégradation plus poussée des groupements spécifiques *a*, *b*, *c* ayant perdu leur pouvoir précipitant. Ces constatations sont en accord avec les résultats déjà obtenus dans ce domaine. Si, en effet, la capacité de se combiner avec l'anticorps peut être conservée par des peptides de poids moléculaire très faible résultant d'une dégradation profonde, comme l'ont montré en particulier les travaux de Landsteiner sur les produits d'hydrolyse de la soie [14], le pouvoir précipitant, par contre, n'est conservé que si la dégradation de l'antigène n'a pas été poussée trop loin. C'est ce qui résulte par exemple de l'étude de l'hydrolyse pepsique à ses stades initiaux [5, 11], de l'étude de la plakalbumine formée à partir de l'ovalbumine sous l'action d'une protéase de *Bacillus subtilis* [10].

Du point de vue physiologique, on ne peut manquer de faire un rapprochement entre l'existence chez le lapin de protéases cellulaires capables de cliver le motif antigénique de l'albumine humaine en trois groupements spécifiques distincts et la présence dans le sérum de lapins immunisés avec l'albumine humaine non dégradée d'anticorps dirigés contre chacun de ces groupements, sans apparemment aucun anticorps dirigé contre plusieurs d'entre eux. Ces deux faits peuvent être liés à la position des groupements spécifiques *a*, *b*, *c* sur la molécule d'albumine, position éventuellement telle que ces groupements suscitent indépendamment la formation d'anticorps et soient dans nos expériences séparés les uns des autres par le clivage enzymatique. Leur rapprochement suggère cependant la possibilité qu'*in vivo* l'action protéolytique se soit exercée avant la formation d'anticorps. Cette conception, où à un premier stade de dégradation de l'antigène succéderait un deuxième stade de synthèse de l'anticorps sous l'influence des débris de cet antigène, a déjà été envisagée dans le cas des antigènes en suspension [2].

Les expériences que nous venons de rapporter montrent enfin l'intérêt des méthodes immunochimiques dans l'étude de la dégradation enzymatique des protéines en général. En effet, alors que l'électrophorèse et, plus encore, les mesures chimiques de la dégradation de l'albumine pouvaient laisser penser qu'une portion importante de l'albumine n'avait pas été attaquée [12], l'immunoélectrophorèse montrait la disparition apparemment complète de l'albumine initiale. Du fait de leur sensibilité et de leur spécificité, les techniques immunochimiques sont donc capables de mettre en évidence, au cours de la protéolyse, des

modifications du substrat inapparentes avec les méthodes classiquement utilisées dans ce domaine.

CONCLUSIONS.

1° Le motif antigénique de la sérumalbumine humaine comporte trois groupements spécifiques différents. Ces trois groupements spécifiques sont séparés par hydrolyse enzymatique de l'albumine à pH 3 par un extrait de rate de lapin et correspondent à des produits de dégradation de l'albumine de mobilités électrophorétiques différentes et précipitant séparément avec un sérum de lapin anti-albumine.

2° Le sérum de lapins immunisés avec la sérumalbumine humaine non dégradée contient trois anticorps différents correspondant aux trois groupements spécifiques de l'albumine et semblant avoir des mobilités électrophorétiques légèrement différentes les unes des autres.

Nous tenons à exprimer notre reconnaissance à M. P. Grabar pour les encouragements et les précieux conseils que nous avons reçus de lui au cours de ce travail.

Nous remercions M. M. Challeil pour son aide technique.

SUMMARY.

1° The antigenic pattern of human serum albumin comprises three different, specific groupings. These three specific groupings are separated by enzymatic hydrolysis of the albumin at pH 3 utilising an extract of rabbit's spleen, and correspond to degradation products of the albumin of different electrophoretic mobility, and precipitate separately with rabbit anti-albumin serum.

2° Rabbit serum immunised with normal human serum albumin contains three different antibodies corresponding to the three specific groupings of the albumin, and appearing to exhibit slightly different electrophoretic mobilities.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] P. BURTIN. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1954, **36**, 1021.
- [2] W. E. EHRLICH et T. N. HARRIS. *Science*, 1945, **101**, 28.
- [3] P. GRABAR et C. A. WILLIAMS. *Biochim. Biophys. Acta*, 1953, **10**, 193 et 1955, **17**, 67.
- [4] M. HEIDELBERGER et F. E. KENDALL. *J. exp. Med.*, 1935, **62**, 467.
- [5] E. HOLIDAY. *Proc. roy. Soc.*, série B, 1939, **127**, 40.
- [6] S. K. HOOKER et W. C. BOYD. *J. Immunol.*, 1934, **26**, 469.
- [7] R. K. JENNINGS. *J. Bact.*, 1954, **67**, 559.

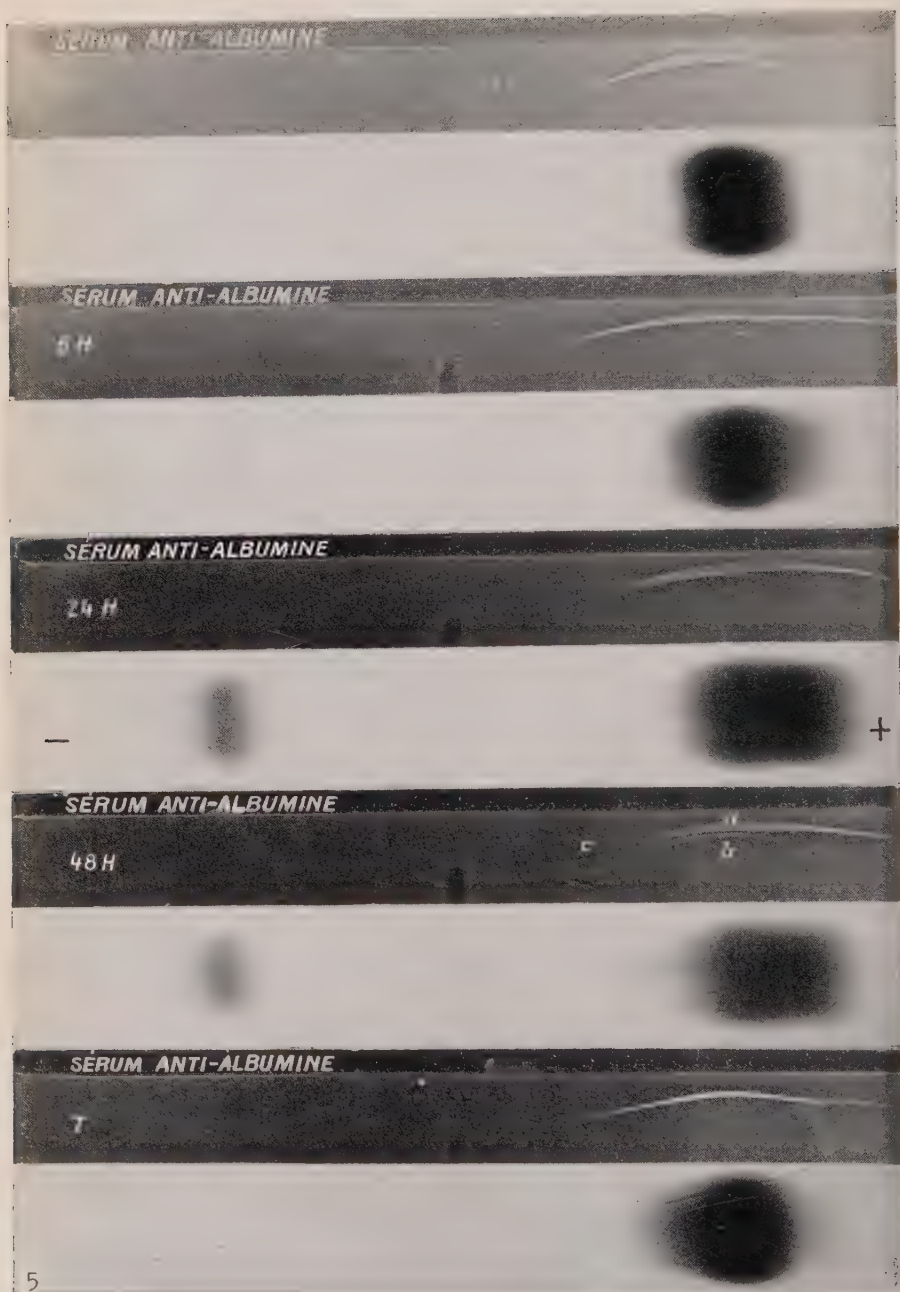


PLANCHE III.

MASSON ET C^{ie}, ÉDITEURS

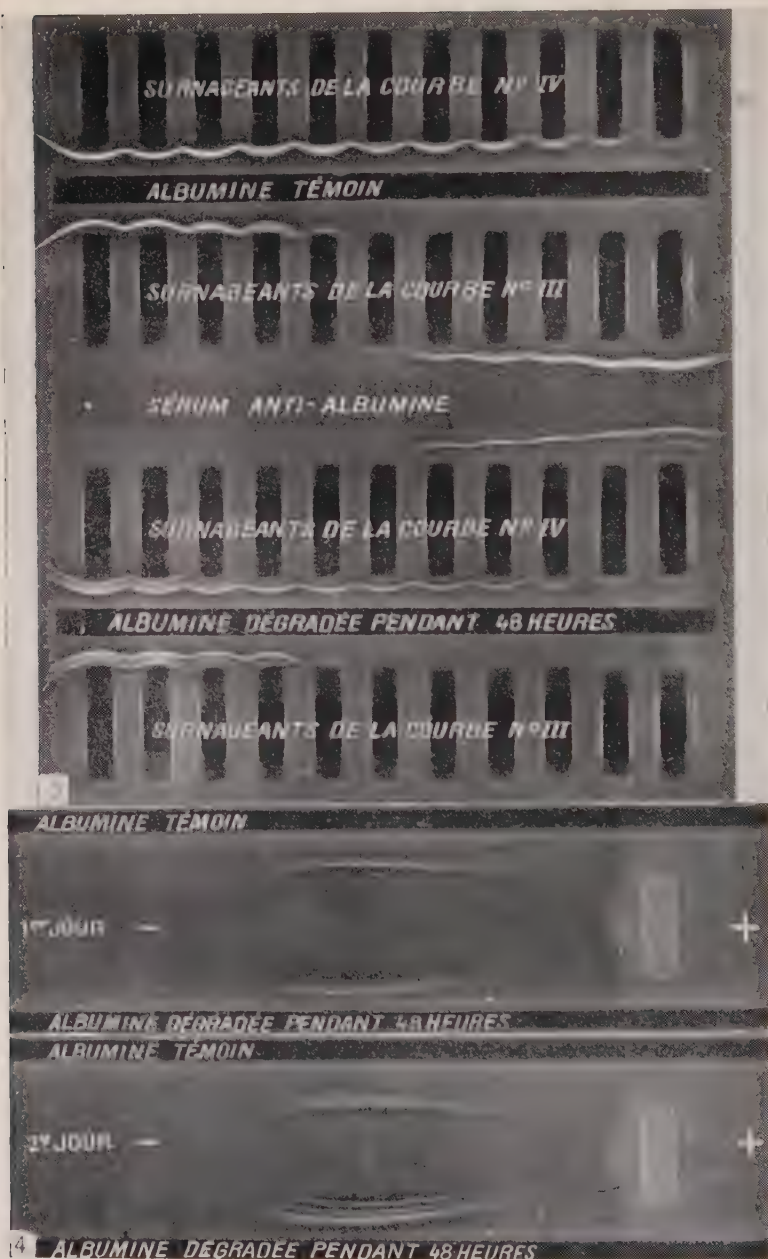


PLANCHE II.

MASSON ET C^{ie}, ÉDITEURS

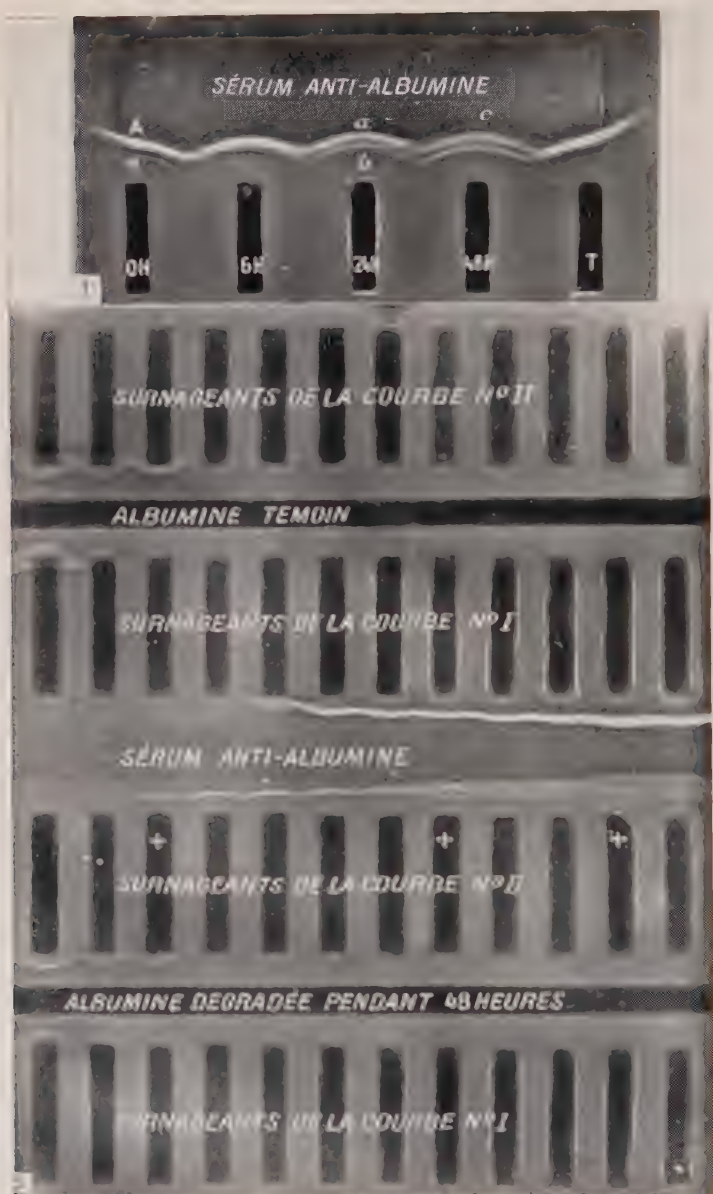


PLANCHE I.
MASSON ET C^{ie}, ÉDITEURS

- [8] R. K. JENNINGS. *J. Bact.*, 1954, **67**, 565.
- [9] M. KAMINSKI. *Biochim. Biophys. Acta*, 1954, **13**, 216.
- [10] M. KAMINSKI et P. GRABAR. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1949, **31**, 684.
- [11] A. KLECZKOWSKI. *Brit. J. exp. Path.*, 1945, **26**, 24.
- [12] C. LAPRESLE. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1955, **37**, 969.
- [13] K. LANDSTEINER. *The specificity of serological reactions*. Harvard University Press, Cambridge, 1945.
- [14] K. LANDSTEINER. *J. exp. Med.*, 1942, **75**, 269.
- [15] K. LANDSTEINER et J. VAN DER SCHEER. *J. exp. Med.*, 1940, **71**, 445.
- [16] O. OUCHTERLONY. *Arkiv. Kemi, Mineral, Geol.*, 1949, B. **26**, 1.
- [17] J. URIEL et J. J. SCHEIDEGGER. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1955, **37**, 165.
- [18] J. SALVINIEN et M. KAMINSKI. *C. R. Acad. Sci.*, 1955, **240**, 257.
- [19] C. A. WILLIAMS et P. GRABAR. *J. Immunol.*, 1955, **74**, 397.

LÉGENDES DES PLANCHES

PLANCHE I

FIG. 1. — Précipitation spécifique en milieu gélifié par double diffusion. Le sérum anti-albumine est dilué au 1/2 dans la gélose. Les échantillons d'albumine sont désignés de la façon suivante : albumine dégradée pendant zéro heure : OH ; pendant six heures : 6 H ; pendant vingt-quatre heures : 24 H ; pendant quarante-huit heures : 48 H, et albumine témoin : T. Photographie prise le quatrième jour d'évolution de la plaque de gélose.

FIG. 2. — Etude des surnageants des courbes I et II par précipitation spécifique en milieu gélifié. Le sérum anti-albumine est dilué au 1/2 dans la gélose. L'albumine est diluée au 1/10 dans l'eau physiologique. Les surnageants ne sont pas dilués. Photographie prise le troisième jour d'évolution de la plaque de gélose.

PLANCHE II

FIG. 3. — Etude des surnageants des courbes III et IV par précipitation spécifique en milieu gélifié. Le sérum anti-albumine est dilué au 1/4 dans la gélose. L'albumine est diluée au 1/10 dans l'eau physiologique. Les surnageants ne sont pas dilués. Photographie prise le deuxième jour d'évolution de la plaque de gélose.

FIG. 4. — Immunoélectrophorèse du sérum anti-albumine. Photographies prises le premier et le deuxième jour d'évolution de la plaque de gélose.

PLANCHE III

FIG. 5. — Immunoélectrophorèse et électrophorèse en gélose de l'albumine. Les échantillons d'albumine sont désignés de la façon suivante : albumine dégradée pendant zéro heure : OH ; pendant six heures : 6 H ; pendant vingt-quatre heures : 24 H ; pendant quarante-huit heures : 48 H, et albumine témoin : T. Photographie de l'immunoélectrophorèse prise le cinquième jour d'évolution de la plaque de gélose. Les photographies de l'immunoélectrophorèse et de l'électrophorèse en gélose sont intercalées de façon que, pour chaque échantillon d'albumine, la photographie de l'électrophorèse en gélose soit au-dessous de celle de l'immunoélectrophorèse.

**ÉTUDE COMPARATIVE
DE LA SENSIBILITÉ DES CULTURES DE TISSU RÉNAL
DE *CERCOPITHECUS ÆTHIOPS SABÆUS*
ET DE
MACACUS PHILIPPINENSIS AUX VIRUS POLIOMYÉLITIQUES
ET AUX AUTRES VIRUS ENTÉRIQUES HUMAINS (*)**

par VICTORIA DROUHET (**) (**).

(*The Children's Hospital Research Foundation,
University of Cincinnati, College of Medicine,
Cincinnati, Ohio, U. S. A.*)

Il est difficile d'obtenir en Europe les singes asiatiques habituellement utilisés pour les recherches sur la poliomyélite. De ce fait, l'emploi de singes africains a été envisagé. Barski, Jezierski et Lépine [1] et dernièrement Jezierski [3] ont trouvé que les cultures de tissus de nombreuses espèces de singes d'Afrique centrale sont sensibles aux virus poliomyélitiques. La sensibilité *in vivo* du singe vert africain (*Cercopithecus aethiops sabaeus*) a été étudiée par Trask et Paul [7], par Paul [4] et par Howe et Bodian [2].

Le but de notre travail est de comparer par des méthodes quantitatives la sensibilité des cultures de tissu rénal du singe vert africain et du singe asiatique *Macacus philippinensis* (habituellement utilisé dans les laboratoires américains) à des concentrations minima de virus poliomyélitiques et de certains virus humains entériques.

MATÉRIEL ET MÉTHODES.

ANIMAUX. — Nous avons utilisé le singe callitriche communément appelé « singe vert africain » correspondant aux carac-

(*) Travail effectué à l'aide d'une bourse du Gouvernement français et à l'aide d'une subvention de la *National Foundation for Infantile Paralysis* des Etats-Unis d'Amérique.

(**) Adresse actuelle : Clinique Médicale des Enfants-Malades (professeur Robert Debré), Hôpital des Enfants-Malades, Paris.

(***) Manuscrit reçu le 26 septembre 1955.

téristiques de *Cercopithecus aethiops sabaeus* et le cynomolgus des Philippines nommé *Macacus philippinensis* ou *M. syrichta*. A cause des difficultés de classification, une photographie du singe africain est jointe (fig. 1).

CULTURES DE TISSUS. — La préparation des cultures de tissu rénal, la même pour les deux espèces de singes, est celle employée par Sabin et ses collaborateurs.

Le milieu nutritif consiste en 88 p. 100 de solution de Hanks,



FIG. 1.

10 p. 100 d'hydrolysât de lactalbumine à 5 p. 100 et 2 p. 100 de sérum de veau (pH final 7,4). Une suspension à 1/200 de cellules rénales trypsinées est faite dans ce milieu nutritif. Cette suspension est répartie à raison de 0,5 cm³ par tube. Après cinq à six jours on ajoute à chaque tube 1,5 cm³ du milieu suivant : 90 p. 100 de solution d'Earle, 10 p. 100 d'hydrolysât de lactalbumine à 5 p. 100 (pH final 8,2).

Les tubes présentant la même surface de croissance des cellules épithéliales sont sélectionnés pour les tests comparatifs.

TITRAGE. — Des dilutions de virus de 10 en 10 sont préparées dans la solution de Hanks ; 0,2 cm³ de chaque dilution est inoculé simultanément dans chaque tube de culture de tissu rénal

provenant de cynomolgus et du singe vert africain. Les tubes ainsi inoculés sont mis dans un appareil à tambour rotatif et l'effet cytopathogène est noté chaque jour pendant une période de huit jours. A cette date, le titre est déterminé d'après la méthode de Reed et Muench.

SOUCHES DE VIRUS. — a) Virus poliomyélitiques (souches spécialement sélectionnées par des passages rapides sur des cultures de tissu rénal de cynomolgus) : type I : Mahoney, trente-cinquième passage ; type II : Y-SK, cinquante-troisième passage ; type III : Leon, trente-sixième passage [6].

b) Virus poliomyélitiques isolés par écouvillonnage rectal d'enfants sains mexicains : type I : souches C. M. E. 83 et C. M. E. 181 ; type II : souches C. M. E. 206 et AB V 1 ; type III : souches C. M. E. 177 et C. M. E. 203.

Ces souches font l'objet d'une étude de Ramos-Alvarez et Sabin à propos des virus rencontrés chez les enfants sains du Mexique.

c) Virus entériques humains, types I, II, III et V, isolés et entretenus sur des cultures de tissu rénal de cynomolgus [5] : H E V-1 Wallace, quatrième passage ; H E V-2 Bryson, cinquième passage ; H E V-3 Hill, septième passage ; H E V-5 Gregory, septième passage.

RÉSULTATS.

Les résultats indiqués dans le tableau I montrent que les souches de poliomyélite spécialement sélectionnées par des pas-

TABLEAU I. — Sensibilité comparée des cultures de tissu rénal du singe vert africain et du cynomolgus pour la détermination des quantités minima de virus poliomyélitiques spécialement adaptés à se développer dans le tissu rénal de cynomolgus.

Type et souche de virus	Singes utilisés	Résultats obtenus en fonction de la concentration en virus (x)										Titre CTD 50/ 0,2cm ³ de liquide de culture
		10 ⁻⁴		10 ⁻⁵		10 ⁻⁶		10 ⁻⁷		10 ⁻⁸		
		a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	
1 Mahoney	Vert africain	5/5	2,2,2,2,3	5/5	2,2,3,3,3	9/10	2,2,2,3,4 4,4,4,5,0	1/10	3,0,0,0,0 0,0,0,0,0	0/10	0,0,0,0,0 0,0,0,0,0	10 6.5
	Cynomolgus	5/5	3,3,3,3,3	5/5	3,3,3,3,3	8/10	4,5,5,6,7 7,8,8,0,0	1/10	5,0,0,0,0 0,0,0,0,0	0/10	0,0,0,0,0 0,0,0,0,0	10 6.4
2 Y -SK	Vert africain	5/5	2,2,2,2,2	5/5	3,3,3,3,3	7/10	3,3,3,3,3 3,3,0,0,0	0/10	0,0,0,0,0 0,0,0,0,0	1/10	2,0,0,0,0 0,0,0,0,0	10 6.3
	Cynomolgus	5/5	3,3,3,3,3	5/5	3,3,3,3,3	8/10	4,4,4,4,4 4,4,5,0,0	2/10	4,4,0,0,0 0,0,0,0,0	0/10	0,0,0,0,0 0,0,0,0,0	10 6.5
3 Léon	Vert africain	5/5	2,2,2,2,2	5/5	2,3,3,3,3	6/10	3,4,4,4,4 4,0,0,0,0	1/10	2,0,0,0,0 0,0,0,0,0	0/10	0,0,0,0,0 0,0,0,0,0	10 6.2
	Cynomolgus	5/5	3,3,3,3,3	5/5	3,3,3,3,4	3/10	3,3,4,0,0 0,0,0,0,0	1/10	8,0,0,0,0 0,0,0,0,0	0/10	0,0,0,0,0 0,0,0,0,0	10 5.8

(*) a) Le numérateur indique le nombre de cultures présentant 75-100 p. 100 d'effets cytopathogènes, le dénominateur indiquant le nombre de cultures inoculées ;
b) Temps en jours après lequel s'observe l'effet. cytopathogène.

sages rapides sur des cultures de rein de cynomolgus atteignent des titres semblables à ceux obtenus sur cellules épithéliales dérivant des reins de *Cercopithecus aethiops sabaeus* et de *Macacus philippinensis*.

Il est à noter toutefois que l'effet cytopathogène apparaît plus tôt dans les cultures de tissu rénal du singe vert africain. Les chiffres mentionnés dans le tableau II indiquent que les résultats obtenus avec les virus du tableau I sont également valables pour les souches de virus poliomyélitiques isolées des selles des enfants

TABLEAU II. — Sensibilité comparée des cultures de tissu rénal du singe vert africain et du cynomolgus pour la détermination des quantités minima de virus poliomyélitiques isolés par écouvillonnage rectal d'enfants sains.

Type et souche de virus	Singes utilisés	Résultats obtenus en fonction de la concentration en virus (x)								Titre CTD 5Q ^{cm3} d'extrait (xx)
		10 ⁻¹		10 ⁻²		10 ⁻³		10 ⁻⁴		
		a	b	a	b	a	b	a	b	
1	Vert africain	2/2	1,1	3/3	1,1	3/3	2,2,2	0/3	0,0,0	10 ^{3,5}
C.M.E. 83	Cynomolgus	2/2	2,2	3/3	2,2,2	3/3	2,2,2	1/3	3,0,0	10 ^{3,8}
1	Vert africain	2/2	3,2	0/3	0,0,0	0/3	0,0,0	0/3	0,0,0	10 ^{1,5}
C.M.E. 181	Cynomolgus	1/2	8,0	0/3	0,0,0	0/3	0,0,0	0/3	0,0,0	10 ^{1,0}
2	Vert africain	2/2	1,2	3/3	2,2,2	3/3	2,2,3	1/3	2,0,0	10 ^{3,8}
C.M.E.306	Cynomolgus	2/2	2,2	3/3	2,3,3	3/3	3,3,5	1/3	8,0,0	10 ^{3,8}
2	Vert africain	2/2	1,2	3/3	1,2,2	3/3	2,2,2	3/3	5,5,6	10 ^{4,5 +}
AB.V. 1	Cynomolgus	2/2	2,2	3/3	2,2,2	3/3	3,3,5	3/3	3,3,3	10 ^{4,5 +}
3	Vert africain	2/2	2,2	0/3	0,0,0	2/3	2,3,0	0/3	0,0,0	10 ^{1,8}
C.M.E. 177	Cynomolgus	2/2	3,3	0/3	0,0,0	1/3	3,0,0	0/3	0,0,0	10 ^{1,7}
3	Vert africain	2/2	2,2	3/3	2,2,2	2/3	0,3,3	2/3	3,4,0	10 ^{4,0}
C.M.E 203	Cynomolgus	2/2	2,2	3/3	3,3,3	3/3	3,3,4	1/3	5,0,0	10 ^{3,8}

(*) Le numérateur indique le nombre de cultures présentant 75 à 100 p. 100 d'effets cytopathogènes, le dénominateur indiquant le nombre de cultures inoculées ; b) temps en jours après lequel s'observe l'effet cytopathogène.

(**) Chaque écouvillon rectal est extrait dans 2 cm³ de solution Hanks contenant 2 000 unités de pénicilline et 2 mg de streptomycine.

normaux. Le tableau III indique que les trois types de virus poliomyélitiques contiennent la même quantité de virus infectant par centimètre cube de liquide de culture, après multiplication dans des cultures rénales du singe vert africain et après multiplication dans celles du cynomolgus.

Dans le tableau IV nous résumons les résultats d'une série d'expériences effectuées afin de déterminer le comportement de certains virus récemment isolés du tractus entérique humain par Ramos-Alvarez et Sabin [5]. Quatre virus entériques de type antigénique distinct produisent un effet cytopathogène semblable à celui observé avec les virus poliomyélitiques.

TABLEAU III. — Titrage dans les cultures rénales de cynomolgus des virus poliomyélitiques développés dans les cultures de tissu rénal du singe vert africain et du cynomolgus.

Type et souche	Tissu du singe où les virus se sont développés	Titre obtenu dans les cultures de cynomolgus CTD 50/cm ³
1	Vert africain	10 ^{7.2}
Mahoney	Cynomolgus	10 ^{7.0}
2	Vert africain	10 ^{7.0}
Y-SK	Cynomolgus	10 ^{7.0}
3	Vert africain	10 ^{7.0}
Léon	Cynomolgus	10 ^{7.0}

TABLEAU IV. — Sensibilité comparée des cultures de tissu rénal du singe vert africain et du cynomolgus pour la détermination des quantités minima de virus humains entériques adaptés à se développer dans les cultures rénales de cynomolgus.

Type et souche	Singes utilisés	Résultats obtenus en fonction de la concentration en virus (x)										Titre CTD 50/0,2 ^{cm3} de liquide de culture	
		10 ⁻⁴		10 ⁻⁵		10 ⁻⁶		10 ⁻⁷		10 ⁻⁸			
		a	b	a	b	a	b	a	b	a	b		
1	Vert africain					3/3	2,2,2	3/3	3,4,4	0/3	0,0,0	10 ^{7.5}	
"Wallace"	Cynomolgus					3/3	3,3,4	1/3	5,0,0	0/3	0,0,0	10 ^{6.8}	
2	Vert africain	3/3	2,2,2	3/3	2,2,2	2/3	3,3,0	0/3	0,0,0			10 ^{6.3}	
"Bryson"	Cynomolgus	3/3	2,2,2	3/3	2,2,2	1/3	3,0,0	0/3	0,0,0			10 ^{5.8}	
3	Vert africain	3/3	3,3,3	3/3	3,3,4	2/3	3,7,0	0/3	0,0,0			10 ^{6.3}	
"Hill"	Cynomolgus	3/3	2,3,3	3/3	3,3,3	0/3	0,0,0	0/3	0,0,0			10 ^{5.5}	
5	Vert africain				3/3	2,2,2	3/3	3,3,4	0/3	0,0,0	0/3	0,0,0	10 ^{6.5}
"Gregory"	Cynomolgus				3/3	3,3,4	1/3	6,0,0	0/3	0,0,0	0/3	0,0,0	10 ^{5.8}

(*) a) Le numérateur indique le nombre de cultures présentant 75 à 100 p. 100 d'effets cytopathogènes, le dénominateur indiquant le nombre de cultures inoculées ; b) temps en jours après lequel s'observe l'effet cytopathogène.

Il est toutefois à noter que les types I et V de virus humains entériques produisent un effet cytopathogène plus précoce dans les cellules épithéliales dérivant du singe vert d'Afrique, tandis que les types II et III ne présentent pas de différences à cet égard.

Les titres des différents virus, déterminés d'après les cultures du singe vert africain, sont uniformément de 0,5 à 0,8 log plus élevés que ceux déterminés d'après les cultures du cynomolgus.

CONCLUSION.

Les cultures épithéliales des tissus rénaux du singe africain *Cercopithecus aethiops sabaeus* et du singe asiatique *Macacus*

philippinensis ont la même sensibilité aux concentrations minima des trois types de virus poliomyélitiques, que l'on utilise des souches adaptées au laboratoire ou des souches provenant de la nature. L'effet cytopathogène apparaît en général plus tôt dans les cellules du singe vert d'Afrique. Les titres de chacun des trois types de virus poliomyélitiques se trouvant dans les cultures de tissu rénal de ce dernier singe ont été aussi élevés que ceux obtenus dans des conditions similaires et simultanément dans les cultures du cynomolgus.

Les cultures de tissu rénal provenant du singe africain paraissent un peu plus sensibles pour la mise en évidence des quantités minima de virus entériques humains.

Les quatre virus entériques de type antigénique distinct produisent un effet cytopathogène semblable à celui des virus poliomyélitiques. Pour deux de ces souches entériques, l'effet cytopathogène apparaît plus tôt dans les cultures rénales du singe vert africain que dans les cultures du cynomolgus. Pour les deux autres souches, l'effet cytopathogène apparaît en même temps.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] G. BARSKI, A. JEZIERSKI et P. LÉPINE. *Ces Annales*, 1954, **86**, 243.
- [2] H. A. HOWE et D. BODIAN. *Amer. J. Hyg.*, 1947, **45**, 223.
- [3] A. JEZIERSKI. *Ces Annales*, 1955, **89**, 78.
- [4] J. R. PAUL. *Yale J. biol. Med.*, 1943-1944, **46**, 461.
- [5] M. RAMOS ALVAREZ et A. B. SABIN. *Roc. Soc. exp. Biol. Med.*, 1954, **87**, 655.
- [6] A. B. SABIN, W. A. HENNESSEN et J. WINSSER. *J. exp. Med.*, 1954, **49**, 551.
- [7] J. D. TRASK et J. R. PAUL. *J. exp. Med.*, 1941, **73**, 453.

SOCIÉTÉ FRANÇAISE DE MICROBIOLOGIE

(Institut Pasteur, 25, rue du Docteur-Roux, Paris, 15^e.)

Séance du 6 Octobre 1955.

Présidence de M. PRÉVOT.

NÉCROLOGIE

JOHN WIRTH

(1914-1954)

Nous avons eu, au cours de l'exercice qui se termine aujourd'hui, la douloureuse surprise d'apprendre la mort d'un de nos jeunes collègues, John Wirth, qu'un tragique accident a enlevé à la science et à l'affection des siens.

John Wirth, Suisse originaire du Canton de Saint-Gall, était né en Angleterre. C'est à Genève qu'il poursuivit ses études classiques et sa formation médicale, achevée en 1939. Docteur en médecine, il accomplit jusqu'en 1949 un certain nombre de stages dans les polycliniques, et en particulier chez le professeur Bickel. En 1943-1944, il avait fait un séjour d'un an à Londres comme délégué du Comité International de la Croix-Rouge ; mais c'est au cours de ses années de stage à l'Institut Pasteur, en 1946-1947, qu'il trouva, au Service des Virus, son orientation définitive en se consacrant à l'étude des cultures cellulaires et à leur application aux recherches sur les virus. Esprit original et grand travailleur, il a contribué à introduire nombre de perfectionnements techniques, qui ont permis aux méthodes aujourd'hui en usage d'atteindre leur plein développement. C'est à ce moment qu'il contribue également à la seconde édition du *Traité des Ultravirus des Maladies humaines*, en rédigeant le nouveau et important chapitre, minutieusement documenté, qu'il a consacré à la culture des virus.

En 1949, John Wirth, nommé chef du Service des Virus à l'Institut d'Hygiène de Genève, voit s'ouvrir pour lui la carrière de recherche qui correspondait à ses goûts. Les nécessités matérielles et l'expérience clinique qu'il avait acquise lui font néanmoins exercer une pratique médicale dans laquelle il trouve un plein succès, et c'est ainsi que jusqu'à sa fin prématurée il peut mener parallèlement une double activité à laquelle il apportait une infatigable ardeur.

Ses travaux pleins de promesses avaient déjà été sanctionnés par des récompenses : en 1950, le Prix Bizot pour son travail sur « L'application de la culture des tissus au diagnostic des maladies à virus » ; en 1951, le Prix de la meilleure thèse pour sa thèse sur « L'utilisation et l'application, en vue de la vaccination, des souches de virus grippal isolées au cours de l'épidémie genevoise de 1949 ». John Wirth avait également consacré des travaux au virus vaccinal, à la microscopie électronique des tissus infectés par le virus de la fièvre Q, à l'ornithose, et tout récemment, après avoir isolé en Suisse les premières souches de virus Cocksackie, il s'était orienté vers les recherches sur la poliomyélite : son dernier travail était consacré à une micro-méthode pour le diagnostic sérologique de cette affection par la fixation du complément.

Sa disparition, qui interrompt une carrière pleine d'avenir et de promesses, sera vivement ressentie, et tous ceux qui ont connu John Wirth s'associent au chagrin de sa veuve et de ses enfants, en les assurant d'un fidèle souvenir.

P. LÉPINE.

COMMUNICATIONS

UN NOUVEAU GROUPE DE MYCOBACTÉRIES

« LES MYCOBACTÉRIES ANORMALES » (1)

par PAUL HAUDUROY.

(Institut d'Hygiène, Lausanne.)

L'étude de plus en plus précise du genre *Mycobacterium* a permis à un certain nombre de chercheurs de découvrir, au cours de ces dernières années, des germes appartenant à ce genre, germes qui ne sont ni des bacilles tuberculeux vrais, ni des bacilles paratuberculeux au sens donné habituellement à ces mots.

Les infections « curieuses » — parfois mortelles — que provoquent ces Mycobactéries diffèrent des altérations classiques produites par le bacille de Koch ; la présence, l'absence ou l'irrégularité de leur pouvoir pathogène pour certains animaux de laboratoire habituellement utilisés les en séparent encore. Elles ne « se conduisent pas comme les autres » et je ne peux que les appeler « anormales ».

Il s'agit essentiellement de Mycobactéries isolées de lésions humaines, se développant ou ne se développant pas à 37°, possédant ou ne possédant pas de tests cyto-chimiques positifs et, ce qui est plus grave, ne tuant pas le cobaye, provoquant simplement chez lui

(1) On trouvera dans *Derniers aspects du Monde des Mycobactéries*, 1 vol., Masson, édit., une étude détaillée des germes dont il est question dans cette communication.

des lésions guérissables ou le laissant complètement indifférent. Tout en elles, on le voit, est irrégulier et l'ensemble de leurs propriétés s'oppose aux connaissances classiques que nous possédons sur le bacille de Koch, qu'il soit du type humain ou bovin.

Voici très schématiquement résumés les caractères de quelques-unes de ces *Mycobactéries* prises comme exemple.

Mac Callum, Tolhurst, Buckle et Gissons publient en 1948 un certain nombre de cas d'ulcérations cutanées observées en Australie, chez des adultes et des enfants, lésions dont ils ont pu isoler un bacille dont le rôle dans l'infection ne fait aucun doute pour eux. Ce germe est « hautement » acido-alcoolo-résistant. La température de culture la plus favorable est 30 à 35°. A 17°-20°, à 41° il ne pousse pas et se développe mal à 37°. Les colonies apparaissent après quatre à cinq semaines sur les milieux spéciaux. Le *cobaye* est absolument insensible quelle que soit la voie d'inoculation. Par contre, le *rat* est sensible et, après inoculation intrapéritonéale, présente de l'ascite, un œdème cutané et — ce qui est plus caractéristique — une épidi-dymite et des lésions scrotales. La *souris* présente, six mois après l'inoculation, une inflammation du tissu sous-cutané et de l'abdomen avec mort survenant quinze jours à un mois après l'apparition de ces phénomènes. Le *lapin*, la *poule*, le *lézard* sont insensibles. Le test de Dubos est positif.

Norden et Linell ont observé en 1951 et 1954, 70 malades environ présentant des lésions ulcéreuses chroniques, localisées au coude en général et évoluant vers la guérison en six mois à deux ans. L'histologie montre la présence d'un tissu de granulation tuberculoïde et, dans un cas, la présence de bacilles aar.

A trois reprises, le germe a pu être isolé. Il s'agit d'un bacille aar, se développant très mal à 37°, poussant mieux à 20 et à 31°, sensible aux antibiotiques antituberculeux, présentant des tests de virulence négatifs. Le *cobaye* ne présente après injection de doses massives par voie intrapéritonéale que des abcès localisés au niveau du scrotum. Il ne meurt pas. Le *lapin* présente des lésions comparables. Chez la *souris* on voit apparaître (voie i. p.) des abcès au niveau de la peau, du scrotum, des lésions pulmonaires. La mort est très fréquente en quatre mois environ. Le chat, la poule sont insensibles.

Pollak et Buhler ont isolé de deux malades différents (dont l'un mourut) un bacille présentant les caractères suivants essentiels. Acido-alcoolo-résistant, il se développe à 20 et à 37° en sept à dix jours, les cultures devenant importantes en trois semaines et présentant une pigmentation jaune or, jaune ocre ou jaune orange. Chez le *cobaye*, lésions locales ou générales sans que l'animal meure. Le *hamster* est tué, la *souris* l'est irrégulièrement, le lapin et la poule sont insensibles.

Sans entrer dans les détails, je citerai quelques autres exemples de *Mycobactéries* « anormales » : *Mycobacterium abscessus* (Moore et Frerich), *Mycobacterium glasgowii* (Lominsky et Hayer-Gibson), les 88 souches isolées de malades par Timpe et Runyon dont aucune ne tue le cobaye (1 mg), mais dont un certain nombre tuent la souris, etc.

Voici donc des bacilles aar dont la majorité a été isolée de produits humains et pour lesquels les tests classiques de culture et de

pouvoir pathogène pour le cobaye ne sont justement plus classiques. Il est absolument certain que bien d'autres exemples de tels germes existent, non moins certain que nombre d'entre eux ont été déjà manipulés puis rejetés, car l'essentiel de leurs caractères (colorabilité mise à part) n'autorisait pas à les identifier avec *Mycobacterium tuberculosis*, et qu'ils ont été probablement « étiquetés » « bacilles paratuberculeux » et considérés alors comme sans intérêt immédiat.

Que sont en réalité ces germes ? Des Mycobactéries incontestables, mais des Mycobactéries dont le pouvoir pathogène paraît être assez faible dans son ensemble pour l'homme ou pour les rongeurs utilisés au laboratoire. Il semble bien que, jusqu'à maintenant, nous les ayons injustement confondues avec celles de l'immense groupe des paratuberculeux, qui serait ainsi en train de se dissocier.

Confusion qui existait autrefois mais d'une façon bien plus modeste, puisqu'à ma connaissance, on n'avait publié que 6 observations de lésions humaines dues à des germes dont nous voyons les échantillons augmenter considérablement en nombre aujourd'hui.

Est-il juste de réunir toutes ces Mycobactéries en un groupe particulier ? Je le pense, car elles ont incontestablement un caractère commun : celui justement de ne pas posséder les caractères classiques des bacilles tuberculeux authentiques ou des vrais bacilles paratuberculeux.

La désignation de « Mycobactéries anormales » ne sera, je l'espère, que provisoire. Elle ne peut se justifier maintenant que par la médiocrité de nos connaissances. Nous pouvons raisonnablement penser qu'une étude plus approfondie d'un plus grand nombre de souches permettra de dissocier le groupe, de créer probablement de nouvelles espèces ou variétés et de situer enfin chacune de ces Mycobactéries anormales à sa vraie place.

L'AGGLUTINATION DES GRAINS D'AMIDON PAR DIFFÉRENTS SÉRUMS.

SUR LA NATURE DU PHÉNOMÈNE

Note préliminaire de : ALBERT DELAUNAY, MICHELLE HÉNON,
MONIQUE PELLETIER et SUZANNE BAZIN.

(Institut Pasteur, Annexe de Garches)

Quand on ajoute à une grosse goutte de sérum déposée sur lame une petite goutte d'une suspension en eau physiologique de grains d'amidon de blé, de maïs ou de froment (200 mg d'amidon pour 15 ml d'eau physiologique), on assiste presque toujours (l'observation étant faite au microscope et à la température du laboratoire) à une agglutination. Cependant, d'après la provenance du sérum, l'agglutination des grains d'amidon se montre, dans son intensité, inégale-

ment grande. Elle est presque toujours très faible avec les sérums de rat, de poulet et de mouton. Elle est, en général, faible mais parfois forte en présence de sérums fournis par l'homme et le cobaye. Elle est moyenne avec les sérums de chevaux. Enfin, avec les sérums de lapin, on peut dire que, dans la grande majorité des cas, elle atteint un degré à lui seul surprenant. En moins de quelques minutes, dans ces sérums, les grains d'amidon, cessant d'être dispersés sans

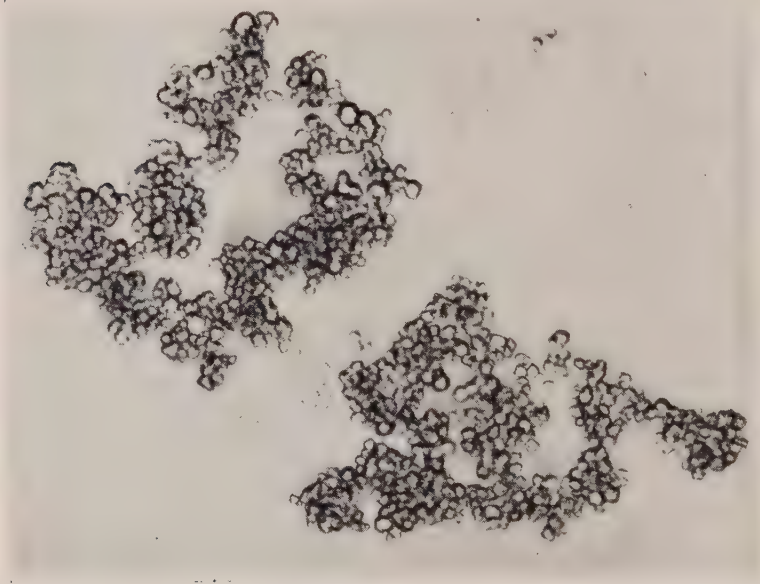


FIG. 1. — Agglutination des grains d'amidon de riz par un sérum de lapin « normal ».

ordre, se réunissent en amas volumineux (V. fig. 1). Ici, l'examen microscopique devient tout à fait inutile ; l'agglutination se voit parfaitement à l'œil nu.

Ce phénomène, que nous avons découvert en novembre dernier, était vraiment trop beau pour ne pas retenir notre attention. Aussi, depuis cette époque, l'avons-nous étudié avec soin.

Tout d'abord, nous avons tenté de déterminer l'influence que pouvaient exercer sur lui *différents facteurs, physiques ou chimiques*. C'est ainsi que nous avons examiné tour à tour l'action du vieillissement, du chauffage, des variations de pH, du formol, de sels divers comme le chlorure, le salicylate, le benzoate, le gentisate et le cyanure de sodium, d'oses comme le glucose, le lactose et le galactose, de l'urée enfin. Chaque fois, nous avons obtenu des résultats intéressants mais,

ceux-ci ayant été rapportés ailleurs [1], nous ne pensons pas utile de les reproduire ici.

Dans un second temps, nous avons voulu savoir s'il était possible de faire perdre à un sérum donné le pouvoir qu'il possède normalement d'agglutiner les grains d'amidon en « l'épuisant » au préalable par différentes substances. Nous avons échoué quand nous avons employé des corps connus pour leur pouvoir adsorbant comme la magnésie lourde, le talc, le kaolin, le carbonate de calcium et le charbon. Nous avons au contraire réussi, dans une proportion importante des cas, en utilisant diverses préparations d'amidon. Cependant — et ce fut là pour nous une nouvelle surprise — les résultats ont différé dans une large mesure :

Selon le mode de préparation de l'amidon utilisé pour « l'épuisement » ;

Selon l'origine de l'amidon, riz, maïs, froment, retenu ;

Enfin, selon la nature des grains d'amidon mis en œuvre lors du test d'agglutination, le sérum ayant été « traité » au préalable par une préparation donnée d'amidon.

Nous reviendrons ailleurs sur les particularités alors observées. Qu'il nous suffise seulement d'ajouter ici que des corps de nature polysaccharidique différents de l'amidon, ajoutés dans un premier temps à un sérum agglutinant, sont aussi capables de modifier ce sérum de manière assez grande pour lui faire perdre justement, en tout ou partie, son pouvoir agglutinant : citons, par exemple, le dextrane, la gélose et surtout le glycogène.

Ceci dit, venons-en au problème majeur qui a retenu — et qui retient toujours — notre attention. Cette agglutination spontanée des grains d'amidon par différents sérums — nous précisons bien des sérums « normaux » —, que peut-elle traduire ? En principe, il y a deux possibilités :

a) On se trouve en présence d'une *banale réaction colloïdale* (comme on en connaît aujourd'hui tant d'exemples), réaction unissant deux macromolécules, l'une présente dans le sérum, l'autre à la surface des grains d'amidon ;

b) On peut aussi penser à une réaction spécifique, l'agglutination en cause mettant en jeu un véritable anticorps anti-amidon. De fait, différents auteurs et, tout récemment encore, dans notre laboratoire, R. A. Nelson Jr. et J. Lebrun [2] se sont crus en droit de parler d'un pouvoir antigénique de l'amidon.

Quel mécanisme est le vrai ? Plusieurs raisons, sans aucun doute, parlent en faveur d'une interaction antigène-anticorps. Les voici :

a) Pouvoirs agglutinants variables d'un sérum à l'autre dans une même espèce animale ;

b) Le fait que les plus hauts titres d'agglutinines observés se trouvent dans les sérums du lapin, c'est-à-dire de l'animal qui, en règle absolue, réagit le mieux au contact d'antigènes ;

c) Le fait aussi, vérifié par nous, que les facteurs, physiques et chimiques, qui troublent l'agglutination de l'amidon, sont aussi capables de troubler une agglutination antigène-anticorps typique comme l'agglutination typhique ;

d) Autre remarque enfin et peut-être la plus importante : ayant

fractionné des sérums de lapin très actifs, nous avons pu voir que le facteur agglutinant se trouve *concentré dans les γ -euglobulines*.

Le concept de l'intervention, dans le cas qui nous occupe, d'un anticorps anti-amidon naturellement acquis apparaît donc séduisant. Malheureusement, quand nous avons essayé d'aller un peu plus loin, nous n'avons plus essuyé que des échecs. Ainsi, nous avons injecté à des cobayes, par voie intrapéritonéale, des doses considérables d'amidon de riz avec l'espoir d'augmenter le pouvoir agglutinant de leur sérum : le résultat fut nul. De même, nous n'avons observé aucune modification du titre agglutinant normal des sérums en privant des lapins de toute alimentation hydrocarbonée ou en les soumettant, au contraire, à une alimentation très riche en grains, cela pendant des semaines.

Fallait-il, dans ces conditions, penser à une *immunisation croisée*, l'anticorps anti-amidon ayant pris naissance dans l'organisme après l'intervention d'un antigène différent, microbien peut-être...? Nous commençons à nous le demander quand une expérience fortuite vint soudain nous mettre sur la voie d'une troisième explication.

Nous avons déposé, dans un sérum de lapin, de la *levure de boulanger*. Nous assistons aussitôt à une agglutination massive des cellules, celle-ci ressemblant étrangement à l'agglutination des grains d'amidon.

Une nouvelle route, du coup, se trouvait ouverte. Nous refaisons, avec la levure, toutes les expériences déjà faites avec les grains d'amidon. En conclusion, les deux phénomènes nous paraissent comparables. Les sérums qui agglutinent le mieux l'amidon sont aussi ceux qui agglutinent le mieux la levure. Les mêmes facteurs, physiques ou chimiques, sont en mesure de troubler les deux types d'agglutination. Seule, une remarque devait nous étonner un peu : il est possible, *mais non régulièrement*, de priver un sérum de son agglutinine-amidon en le traitant par la levure, ou vice versa.

Toutes ces observations seront développées ailleurs. Mais ce que nous voudrions souligner ici, c'est l'importance que nous attachons à celles de nos constatations qui concernent la levure. Nul n'ignore à l'heure actuelle le grand intérêt que soulève la *properdine* [3]. Or, quelle est une des grandes caractéristiques de cette nouvelle protéine? C'est de pouvoir se combiner avec un extrait insoluble de levure appelé *zymosan*.

Dans l'état actuel de nos recherches, il demeure encore tout à fait impossible de préciser le degré de parenté existant entre l'agglutinine-amidon et l'agglutinine-levure. Il est non moins impossible de préciser les rapports — s'il y en a — entre les deux agglutinines en question et les différentes fractions du complément, encore que nous puissions déjà affirmer que nos agglutinines exercent parfaitement leur action dans des sérums décomplémentés.

Ce qui se dégage en revanche avec une certaine clarté, c'est la notion suivante : dans un sérum donné, il serait insuffisant de séparer seulement protéines banales et protéines-anticorps. On devrait distinguer un autre groupe, celui de protéines spéciales, variables quantitativement d'un sérum à l'autre sans être de vrais anticorps, et remarquables par leurs propriétés physiologiques le plus souvent inattendues.

Dans ce groupe déjà, nous rangerions volontiers la *properdine*, la

protéine qu'étudie actuellement Wood (C. reactive protein) [4] et aussi la protéine découverte par L. Thomas qui est capable de se combiner avec l'héparine [5]. Faut-il y placer encore les agglutinines amidon et levure? La suite de nos recherches nous l'apprendra.

De toutes façons, il serait très étonnant que l'étude systématique d'un tel groupe ne conduise pas à des observations importantes.

BIBLIOGRAPHIE

- [4] A. DELAUNAY, M. HÉNON, M. PELLETIER et G. BAGGI. *C. R. Ac. Sci.*, 1955, **240**, 2094.
- [2] R. A. NELSON Jr. et J. LEBRUN. *Congrès International d'Hématol.*, Paris, 1954. (Volume du Congrès.)
- [3] L. PILLEMER, L. BLUM, I. H. LEPOW, O. A. ROSS, E. W. TODD et A. C. WARDLAW. *Science*, 1954, **120**, 279.
- [4] H. F. WOOD, M. MCCARTY et R. J. SLATER. *J. exp. Med.*, 1954, **100**, 71.
- [5] L. THOMAS, R. T. SMITH et R. VON KORFF. *Proc. Soc. exp. Biol. a. Med.*, 1954, **86**, 813.

MODIFICATIONS DE LA FORMULE LEUCOCYTAIRE AU COURS DE L'INTOXICATION EXPÉRIMENTALE PAR L'ANTIGÈNE O DU BACILLE TYPHIQUE

par P. BOQUET et Y. IZARD.

(Institut Pasteur, Annexe de Garches)

Tous les expérimentateurs s'accordent pour reconnaître qu'une injection sous-cutanée au lapin, au cobaye, au rat ou à la souris, d'une suspension de bacilles typhiques tués, d'un lysat de ces microbes ou de leur endotoxine, diminue le nombre des leucocytes circulants, mais la cause de ce phénomène est mal connue.

A. Delaunay et J. Lebrun [1] constatent en 1947 que la surrénalectomie augmente la sensibilité de la souris à l'endotoxine typhique (antigène O). Ils observent cependant que la diminution du nombre des leucocytes circulants sous l'influence du poison microbien est moins importante dans le sang des animaux privés de leurs glandes surrénales que dans le sang des animaux témoins qui n'ont pas subi la surrénalectomie. Peu après, L. A. Lewis et I. H. Page [2] rapportent qu'en dépit d'une concentration passagère du sang, le nombre des lymphocytes circulants du rat surrénalectomisé diminue sous l'influence d'une injection de vaccin typhique. Selon ces mêmes expérimentateurs, le nombre des leucocytes dans le sang des rats surrénalectomisés, qu'on traite par des injections répétées d'un extrait de surrénale, diminue également sous l'influence d'une injection de vaccin typhique, mais le nombre des polynucléaires augmente dans le sang des rats traités par l'hormone, alors qu'il diminue dans celui des rats non traités.

Par ailleurs, I. Bennett [3, 4] et B. Soylemezoglu avec J. A. Wells [5] démontrent que la cortisone est sans action sur la leucopénie provoquée par une injection, au lapin, d'une suspension de bacilles typhiques tués et que l'ablation de la glande surrénale du chien ne prévient pas la diminution du nombre des leucocytes dans le sang de cet animal lorsqu'on lui injecte des extraits microbiens pyrogènes dont les propriétés nocives sont comparables à celles de l'endotoxine typhique. Les résultats de ces expériences sont confirmés par E. Atkins, F. Allison, M. R. Smith et W. Wood [6].

Dans un autre ordre de faits, nous avons observé en 1949 que des substances telles que la dibénamine (N-N dibenzyl- β -chloréthylamine) ou la dihydroergotamine, qui suppriment les effets de l'adrénaline, suppriment également certains symptômes caractéristiques de l'intoxication par l'antigène typhique O [7, 8], entre autres la constriction des artérioles périphériques, lorsqu'elles sont administrées au lapin ou au cobaye trente minutes avant l'injection d'une dose mortelle de ce poison. Dans quelle mesure les modifications du nombre des leucocytes circulants et les altérations de la formule leucocytaire, produites *in vivo* par l'endotoxine, sont-elles sous la dépendance des sécrétions de la glande surrénale? Les expériences que nous résumons ci-dessous ont été faites dans le dessein de préciser le rôle de ces hormones.

EXPÉRIENCE I. — Dix-neuf lapins de 2 000 à 3 000 g sont répartis en six lots. Aux lapins du premier lot, on injecte, par la voie veineuse, une solution de dibénamine à raison de 3 à 6 mg de produit sec par kilogramme d'animal, trente minutes avant l'injection, par la même voie, d'une dose mortelle en moins de vingt-quatre heures d'antigène typhique O préparé selon la méthode de A. Boivin et L. Mesrobianu.

Les lapins du second lot sont traités de la même façon, mais on substitue la dihydroergotamine à la dibénamine, aux doses de 0,5 mg et 1 mg par kilogramme. Aux animaux des troisième, quatrième, cinquième lots, on injecte un seul des réactifs : à ceux du troisième lot la dibénamine, à ceux du quatrième lot la dihydroergotamine et à ceux du cinquième lot l'antigène. Enfin les lapins du sixième lot sont pris pour témoins.

Des numérations de globules rouges et blancs sont faites, à intervalles réguliers, dans le sang des animaux, avant et après les injections d'épreuve.

Les résultats sont groupés dans le tableau I.

EXPÉRIENCE II. — Quarante rats blancs de même poids et de même origine sont surrénalectomisés. Huit jours après la surrénalectomie, on injecte par la voie sous-cutanée à 10 de ces animaux et à 9 rats normaux, 1 mg d'antigène typhique O. Dix autres rats surrénalectomisés sont traités par une injection quotidienne de 2,5 mg de cortisone sous la peau, les cinquième, sixième et septième jours après la surrénalectomie. Une heure après la dernière injection d'hormone, on leur administre l'antigène typhique dans les mêmes conditions qu'aux animaux des deux premiers lots.

Poids (en kg)	Dose AdrénoLytique (mg/kg)	G.R. G.B. Avant l'épreuve (par milliers)	Antigène typhique 50 min après adrénolytique (en mg/kg)	Résultats après:			
				1h à 2h G.R. G.B.	2h à 5h G.R. G.B. (par milliers)	5h à 4h G.R. G.B.	
I. Lapins traités par la DIBENAMINE:							
5,72	6	5.886	I	6.448	5.936	6.126	2
2,52	6	5.936	I	7.450	7.228	8.136	2,8
2,79	3	6.888	I	6.744	4,8	6.836	3,2
2,81	3	5.600	0	5.488	7,8	5.940	6,5
2,95	3	5.656	0	5.600	13,6		
2,75	6	5.240	0	4.816	9	10,5	
					5.616	13,4	
II. Lapins traités par la DIHYDROERGOTAMINE:							
2,66	0,9	4.136	4	4.240	7,2		
2,53	I	6.452	I	6.448	4	7.278	2,2
2,23	0,5	5.032	0,8			5.152	
2,55	0,5	5.488	0,8	7.056	2,8		
2,62	I	6.352	0	5.840	12,6		
2,02	I	5.616	0			5.648	11,4
III. Lapins TMOIS:							
2,86	0	6.700	I,5	7.500	5,4		
3,28	0	6.028	I,5	7.000		7.540	2
2,42	0	6.505	I	8.784	2,8		
2,40	0	5.920	I	6.400	2,2		
3,16	0	6.536	0	6.328	9,2		
3,50	0	6.088	0	5.868		6.352	2
2,65	0	4.650	0	4.161	9,6		
						4.576	8,8

+ Mort en 1h.42
choc après l'injection de dihydroergotamine.

TABLEAU II.

Rats	Nombre de rats	G.B. par mm ³	neutro par mm ³	Polynucléaires baso par mm ³	eosino par mm ³	Lymphocytes par mm ³	Monocytes par mm ³
<u>Normaux:</u> a) tels quels b) 6h après l'injection d'antigène typhique.	9	6488 ± 552	1803 ± 158	39 ± 14	98 ± 30	4541 ± 116	207 ± 29
	11	4591 ± 705	2568 ± 568	30 ± 11	75 ± 25	1628 ± 294	90 ± 15,8
<u>Surrénalect.</u> a) tels quels b) 6h après l'injection d'antigène typhique	9	8555 ± 228	2355 ± 228	21 ± 14	84 ± 35	5852 ± 367	283 ± 39
	10	4180 ± 589	1414 ± 219,8	59,8 ± 21,7	107,9 ± 36,7	2497,1 ± 197	102 ± 29,5
<u>Surrénalect. traités par la gactisone:</u> a) tels quels b) 6h après l'injection d'antigène typhique.	11	8400 ± 953	5577 ± 764	0	75 ± 31,5	2821 ± 318	127 ± 41
	10	4560 ± 599	3018 ± 597	0	52 ± 18	1465 ± 112	25 ± 8,2

Les chiffres rapportés dans ce tableau expriment des moyennes.

L'erreur standard est calculée suivant la formule : Es. $\sqrt{\frac{\sum d^2}{n(n-1)}}$ où d exprime la différence entre les chiffres correspondants à chaque injection et la moyenne et n le nombre des numérations.

Vingt-neuf rats témoins sont répartis en trois lots comprenant : 9 rats normaux, 9 rats surrénalectomisés et 11 rats surrénalectomisés traités par la cortisone.

Six heures après l'injection de l'antigène typhique, on prélève au cœur de tous les rats un peu de sang pour y déterminer, suivant les méthodes usuelles, le nombre des globules blancs par millimètre cube et la proportion des leucocytes mononucléés et polynucléés.

Cette expérience est résumée dans le tableau II.

DISCUSSION ET CONCLUSION. — Ni la dibénamine, ni la dihydroergotamine administrées au lapin trente minutes avant l'injection intra-veineuse d'une dose mortelle d'antigène typhique O ne suppriment la réaction leucocytaire qui caractérise l'intoxication par ce poison microbien. En effet, moins d'une heure après l'injection de l'antigène, le nombre des leucocytes diminue dans le sang des animaux traités par les substances adrénolytiques et dans le sang des animaux témoins non traités. Parallèlement, le nombre des globules rouges augmente.

L'ablation des glandes surrénales ne supprime pas davantage la réaction leucocytaire des animaux intoxiqués. Sous l'influence de l'antigène typhique, le nombre des leucocytes diminue dans le sang des rats témoins non surrénalectomisés et dans le sang des rats privés de leurs glandes surrénales, mais la proportion des différents types de leucocytes varie selon que les échantillons de sang examinés ont été prélevés sur des rats normaux ou sur des rats sans surrénales. Alors que le nombre des cellules mononucléées diminue dans de fortes proportions sous l'influence de l'injection de l'endotoxine dans le sang des animaux qui n'ont pas subi la surrénalectomie, il diminue dans des proportions moindres dans le sang des animaux surrénalectomisés. Au contraire, le nombre des polynucléaires augmente dans le sang des premiers, il diminue dans celui des seconds. Enfin, le traitement des rats surrénalectomisés par la cortisone augmente la proportion des polynucléaires circulants.

En résumé, dans les conditions de notre expérience, la diminution du nombre total des leucocytes dans le sang des animaux intoxiqués par l'antigène typhique O est indépendante de la glande surrénale, mais la diminution et l'accroissement relatifs des leucocytes circulants mononucléés et des leucocytes polynucléés semblent déterminés par la sécrétion hormonale de cette glande.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] A. DELAUNAY et J. LEBRUN. *Rev. Hématol.*, 1947, **2**, 104.
- [2] L. A. LEWIS et I. H. PAGE. *Am. J. Physiol.*, 1948, **153**, 148.
- [3] I. BENETT. *Proceed Soc. exp. Biol. Med.*, 1951, **77**, 772.
- [4] I. BENETT et P. BEESON. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1953, **93**, 290.
- [5] B. SOYLEMEZOGLU et J. A. WELLS. *Proceed. Soc. exp. Biol. Med.*, 1951, **77**, 43.
- [6] E. ATKINS, F. ALLISON, M. R. SMITH et W. WOOD. *J. exp. Med.*, 1955, **101**, 353.
- [7] P. BOQUET. *Proceed. Soc. exp. Biol. Med.*, 1950, **75**, 254.
- [8] P. BOQUET. *C. R. Soc. Biol.*, 1951, **145**, 979.

ÉTUDE DU POUVOIR MICROBICIDE ET DU POUVOIR ANTIBIOTIQUE DE LA GELÉE ROYALE SUR LE BACILLE DE KOCH

par H. HINGLAIS, M. HINGLAIS, J. GAUTHERIE et M. LANGLADE.

Dans une note précédente [4], nous avons établi l'action bactéricide de la gelée royale sur deux espèces microbiennes communes (*Staphylococcus aureus* et *Proteus vulgaris*). Nous exposerons dans celle-ci nos recherches consécutives sur *Mycobacterium tuberculosis*. L'expérience a porté sur une souche virulente de type humain, cultivée en milieu de Dubos et âgée de 14 jours et contenant environ 500 millions de germes par centimètre cube.

I. ÉTUDE DU POUVOIR MICROBICIDE. — 0,8 cm³ de culture pure de B. K. ci-dessus sont additionnés de 160 mg de gelée royale (concentration 200 mg/cm³). Le mélange est laissé en contact quinze minutes, puis vingt-quatre heures.

Dans chaque cas, 0,10 cm³ de ce mélange, après ces durées respectives, sont ensemencés sur Dubos, sur Löwenstein-Jensen et sur milieu gélose-glycérine-sang humain.

Un témoin sans gelée est ensemencé parallèlement sur les mêmes milieux.

Les résultats furent les suivants :

	DURÉE DE LA CULTURE			
	6 jours	10 jours	90 jours	
Témoin BK :				
Dubos	+++	+++	+++	Caractères culturels (morphologie et colorabilité) non modifiés.
Löwenstein-Jensen	—	+++	+++	
Gélose-glycérine-sang humain	—	+++	+++	
Mélange GR + BK, contact quinze minutes :				
Dubos	++	+++	+++	
Löwenstein-Jensen	—	+++	+++	
Gélose-glycérine-sang humain	—	+++	+++	
Mélange GR + BK, contact vingt-quatre heures :				
Dubos	—	—	—	
Löwenstein-Jensen	—	—	—	
Gélose-glycérine-sang humain	—	—	—	

L'action germicide de la gelée royale sur le B. K. est donc certaine.

II. ETUDE DU POUVOIR ANTIBIOTIQUE. — Ici le germe n'est pas préalablement mis en contact avec la gelée royale avant d'être ensemencé, mais les milieux de culture sont additionnés d'une certaine charge de gelée royale selon la technique classique pour l'essai des antibiotiques. Les essais ont porté sur les milieux de Löwenstein-Jensen et sur le milieu gélose-glycérine-sang humain. Dans chaque cas, on ensemence avec 0,10 cm³ de la culture en Dubos âgée de 14 jours.

	DURÉE DE LA CULTURE			
	10 jours	20 jours	30 jours	90 jours
a) Témoins :				
Löwenstein-Jensen	++	++	++	++
Gélose-glycérine-sang humain.	++	++	++	++
b) Löwenstein-Jensen + 50 mg gelée royale par tube.	—	++	++	++
c) Gélose-glycérine-sang humain + 150 mg gelée royale par tube	—	—	—	—

Les résultats montrent une action antibiotique certaine de la gelée royale à l'égard de *Mycobacterium tuberculosis* dans les conditions de l'expérience.

III. ETUDE DE L'ACTION BACTÉRICIDE DE LA GELÉE ROYALE PAR INOCULATION AU COBAYE. — Pour vérifier l'action bactéricide, des essais *in vivo* ont été entrepris.

Une culture pure de B. K. en Dubos est mise en contact pendant vingt-quatre heures avec de la gelée royale aux concentrations indiquées plus haut.

Le mélange est inoculé dans le sillon inguinal à deux cobayes de 500 g à raison de 0,10 cm³ de suspension microbienne contenant environ 50 millions de germes. Deux témoins sont inoculés avec la même dose sans gelée royale.

Voici les résultats de ces essais :

Animaux témoins. — Au quinzième jour : courbe de poids en baisse ; chancres d'inoculation avec volumineux ganglion inguinal.

Au trente-cinquième jour, les animaux sont sacrifiés et autopsiés : Chute du poids de plus de 50 p. 100. Très gros ganglion inguinal caséifié. Foie et rate totalement tuberculisés. Recherche du bacille de Koch dans les frottis de ganglions et d'organes : très abondamment positive.

Animaux en expérience. — Au trente-cinquième jour, un animal est sacrifié et autopsié : courbe de poids normale ; aucune lésion locale ou ganglion inguinal suspects ; tous les organes sains. Recherche du bacille de Koch dans les frottis de ganglions et d'organes : négative.

Au quatre-vingt-dixième jour : Courbe de poids normale. Santé par-

faite. Aucune lésion locale ou ganglion inguinal perceptible dans la région inoculée. Autopsie négative. Tous les ganglions et viscères sont parfaitement sains et leurs frottis sont négatifs au Ziehl.

RÉSUMÉ. — Les essais rapportés dans cette note démontrent une action *bactéricide* et une action *antibiotique* très nette de la gelée royale sur la souche humaine de *Mycobacterium tuberculosis* employée dans les expériences.

Il semble donc que la gelée royale doive s'inscrire parmi la liste encore extrêmement réduite des substances antibiotiques d'origine animale, agissant notamment sur le bacille de Koch.

Des essais pour isoler la fraction active sont poursuivis et seront rapportés en détail ultérieurement.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] H. HINGLAIS, M. HINGLAIS et J. GAUTHERIE, *C. R. Soc. Biol.*, séance du 11 juin 1955.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU GENRE *SPHEROPHORUS*.

RECHERCHE DU POUVOIR HÉMAGGLUTINANT

par P. TARDIEUX.

(Institut Pasteur, Service des Anaérobies)

Beerens [1] a proposé une méthode de différenciation entre *Spherophorus funduliformis* (Hallé) et *Spherophorus necrophorus* (Schmorl) qui utilise l'agglutination des hématies de diverses espèces animales. Il nous a paru intéressant de soumettre à ce test les autres espèces de ce même genre que nous avons eu l'occasion d'isoler ces dernières années de sphérophoroses humaines ou vétérinaires.

La technique de Beerens consiste à mélanger sur lame :

1° 1 goutte d'une suspension en eau salée à 8,5 p. 1 000 d'hématies lavées ;

2° 1 goutte de suspension de bactéries lavées obtenue en reprenant le culot de 10 ml de culture en bouillon Vf glucosé à 2 p. 1 000 par X gouttes d'eau salée à 8,5 p. 1 000.

Nous avons utilisé des hématies d'homme et de mouton.

L'origine des 40 souches expérimentées et les résultats obtenus sont indiqués ci-dessous.

Sph. necrophorus : 2 souches provenant d'abcès vétérinaires :

L'un (356) chez le cheval : agglutination *positive* (pour les hématies d'homme et de mouton).

L'autre (696 D) chez le mouton : agglutination *fortement positive* (pour les hématies d'homme et de mouton).

Sph. funduliformis : 5 souches (267, 525, 548, 860, 992), toutes isolées chez l'homme, de septicémies, méningite, abcès pulmonaire, ou de tartre dentaire : hémagglutination *négative*.

Sph. pseudonecrophorus : 6 souches (312 E, 369 A, 383, 658, 867 A, 880) d'origine humaine : septicémies, abcès pulmonaires, phlegmon du cou, ulcère de la jambe : hémagglutination *négative*.

1 souche (894) d'origine animale : arthrite suppurée du lapin : hémagglutination *faiblement positive* pour hématies d'homme et de mouton.

Sph. gulosus : 5 souches (305, 479, 596 A, 885, 916) isolées d'infections humaines : septicémies, méningite, cystite, péritonite : hémagglutination *négative*.

Sph. varius : 3 souches (263 A, 387 B, 422 B) isolées de diverses suppurations chez l'homme : hémagglutination *négative*.

1 souche isolée du foie de rat : hémagglutination *négative*.

Sph. ridiculosus : 6 souches (350 A, 427 B, 430, 470 A, 644 B, 909), toutes d'origine humaine : abcès pleural, appendicite et cystite suppurées, abcès périnéal, épithéliome gingival infecté, bactériémie au cours d'une cholécystite : hémagglutination *négative*.

Sph. mortiferus : souche 306 : hémagglutination *négative*.

Sph. freundi : 5 souches (429, 734, 772, 809 B, 956) provenant toutes de suppurations abdominales chez l'homme : hémagglutination *négative*.

Sph. pyogenes : souche 404 isolée d'une septicémie post-appendiculaire chez l'homme : hémagglutination *négative*.

Sph. glycolyticus : 4 souches (564 B, 564 C, 590 A, 917) d'origine humaine : infections puerpérales, pleurésie purulente, ulcère : hémagglutination *négative*.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS. — Aucune de nos souches d'origine humaine n'a montré de pouvoir hémagglutinant.

Parmi les souches de provenance vétérinaire, malheureusement moins nombreuses, 2 ont donné un test nettement positif : celles appartenant à l'espèce *necrophorus* ; 1 un test faiblement positif : *Sph. pseudonecrophorus* ; 1 un test négatif : *Sph. varius*.

Il semble donc que le pouvoir hémagglutinant soit un caractère distinctif de l'espèce *necrophorus*.

BIBLIOGRAPHIE

- [4] H. BEERENS. Ces *Annales*, 1954, **86**, 384.

COMPORTEMENT DES SOUCHES MALGACHES DE *PASTEURELLA PESTIS* A L'ÉGARD DU RHAMNOSE

par E. R. BRYGOO et J. COURDURIER.

(Institut Pasteur de Madagascar)

Depuis les travaux de Bezsonova [1] en 1926, l'étude de l'action de *Pasteurella pestis* sur le rhamnose fut l'objet de nombreuses recherches. Il s'agit d'une de ces réactions biochimiques des germes pathogènes auxquelles s'intéressent à la fois les épidémiologistes et les systématiciens.

Grâce à l'importante collection de souches malgaches de *Past. pestis* réunie par les D^{rs} Girard et Robic à l'Institut Pasteur de Tananarive, collection que nous augmentons chaque année de quelques unités, nous avons pu étudier le comportement de 105 souches locales à l'égard du rhamnose.

A. LES SOUCHES. — La collection utilisée comprend :

94 souches d'origine humaine dont 93 isolées par l'intermédiaire du cobaye (la pseudo-tuberculose est inconnue chez le cobaye à Madagascar : Girard [2]) et 1 souche obtenue directement par hémoculture ;

5 souches d'origine murine ;

2 souches isolées de peste naturelle du lapin ;

1 souche isolée d'un cas de peste naturelle du cobaye ;

1 souche isolée par inoculation d'un lot de *Xenopsylla cheopis* ;

2 souches, enfin, provenant de peste expérimentale du lémurien.

Ces 11 souches d'origine animale furent toutes isolées par l'intermédiaire de l'inoculation au cobaye.

Les souches sont entretenues au laboratoire depuis un temps variant de vingt-neuf ans pour la plus ancienne à trois mois pour les plus récentes. 100 ont plus d'un an, 67 plus de cinq ans.

Les souches les plus anciennes furent entretenues sur gélose Martin. Depuis deux ans, les souches sont conservées en gélatine pauvre. Toutes ces souches, éprouvées sur milieu gélosé peptoné glyciné avec comme indicateur le rouge de phénol, se sont montrées glycérol négatives.

B. LES TECHNIQUES. — 1° *Le milieu de culture.* — Girard d'une part [3], Pollitzer de l'autre [4], recommandent l'utilisation d'une technique standardisée et proposent la recherche de l'acidification des milieux contenant des hydrates de carbone en eau peptonée à 1 p. 100.

Après différents essais, il nous a semblé que le milieu suivant était particulièrement favorable à la croissance de *Pasteurella pestis* :

Tryptose Bacto	1 g
Protéose Peptone n° 3	2 g
Casamino acid Disco	1 g
ClNa	1 g
Eau	200 cm ³
Rhamnose	2 g
Indicateur	Q. S.
pH 7,4	

Le milieu, filtré sur L3, est réparti à raison de 4 cm³ dans des tubes de 12 mm de diamètre bouchés par un capuchon de galalithe vissé.

2° *L'indicateur de pH.* — Pour des essais comparatifs, nous avons utilisé simultanément, avec les mêmes souches, l'indicateur d'Andrade recommandé par Girard et par Pollitzer, le rouge de phénol, le bleu de bromothymol et le bromocrésol pourpre.

Dans les conditions de l'expérience, le rouge de phénol et le bleu de bromothymol furent nettement supérieurs aux deux autres. La supériorité du rouge de phénol sur le réactif d'Andrade avait déjà été signalée par Devignat et Boivin [5]. Après ces essais comparatifs, nous avons choisi comme indicateur de routine le rouge de phénol.

3° *L'ensemencement.* — Nous ensemencions dans chaque tube une pleine anse d'une culture sur gélose Martin, culture âgée de 3 à 7 jours.

4° *L'observation.* — Les milieux ensemencés étaient laissés à la température du laboratoire et observés quotidiennement pendant un mois. Au moment de l'observation, chaque tube était agité et sa coloration notée.

Avec le rouge de phénol, on observe constamment dans les premiers jours une modification de la coloration, le liquide devenant rouge orangé. Cette variation de teinte est probablement due aux variations du Eh du milieu où la croissance est très active. L'acidification s'accompagne d'une coloration jaune nette ; ne sont considérés comme positifs que les tubes présentant cette coloration. En l'absence d'acidification, on constate le plus souvent une alcalinisation importante du milieu. Cette alcalinisation débute par la surface du liquide, elle peut précéder ou parfois suivre l'acidification, traduisant l'utilisation du rhamnose.

5° *Les contrôles.* — Le milieu de base utilisé sans rhamnose ne présente jamais d'acidification.

Dans les mêmes conditions expérimentales, 6 souches de collection du bacille de la pseudo-tuberculose donnent une acidification nette en deux à trois jours.

Chaque culture positive était reprise et donnait lieu à un contrôle d'identité et de pureté par le bactériophage.

C. LES RÉSULTATS. — Le tableau I rassemble les résultats expérimentaux.

1° *Souches rhamnose positives.* — Sur les 105 souches étudiées, 2 utilisent régulièrement le rhamnose. L'acidification a lieu en deux à trois jours pour l'une, donc aussi rapidement que pour les

souches P. S. T., et en six à dix jours pour l'autre. Ces deux souches furent isolées par inoculation au cobaye de prélèvements d'organes humains, l'une en 1949, l'autre en 1952 ; elles sont depuis régulièrement entretenues sur milieu sans rhamnose.

TABLEAU I.

SOUCHES								
Nombre d' essais	Négatives tous essais	Irrégulièrement positives					Positives tous essais	TOTAL
		Nombre d'essais positifs						
		1	2	3	4	5		
2	35							35
3	13	11						24
4	3	1	3					7
5		5	7					12
6		1	8	2	1			12
7		5	3			1		9
8			1					1
9						2		2
10						1	2	3
TOTAL:	51	23	22	2	1	4	2	105

2° *Souches rhamnose négatives.* — 51 souches, essayées chacune au moins sur deux milieux rhamnosés, ont donné des résultats négatifs.

3° *Souches utilisant irrégulièrement le rhamnose.* — 54 souches ont au moins une fois, au cours des divers essais, acidifié un milieu rhamnosé.

4° *Variantes rhamnose positives.* — Il est possible d'isoler, à partir d'un tube de culture où le rhamnose a été utilisé, une souche de bacille de Yersin qui utilise régulièrement et rapidement ce sucre, même si la souche primitive ne donne qu'une acidification tardive et inconstante.

Nous avons essayé cet isolement à vingt reprises. Nous avons, chaque fois, obtenu une variante utilisant le rhamnose en quarante-huit heures.

D. DISCUSSION. — L'acidification des milieux rhamnosés par *Pasteurella pestis* est classiquement un caractère peu fréquent, puisque Pollitzer [6] peut écrire que le bacille pesteux d'une manière presque constante ne touche pas le rhamnose, bien que quelquefois il se produise une acidification tardive.

Parmi les souches glycérol négatives (variété orientale), Chen [7], sur 53 souches étudiées, en trouva 2 utilisant le rhamnose, l'une provenant de Hawaï, l'autre de Californie. C'est à cette variété qu'appartiennent

les souches de Madagascar que l'on considérait également comme n'utilisant pas le rhamnose [2].

Les renseignements concernant les souches glycérol positives sont beaucoup plus nombreux. Devignat et Boivin [5, 8], sur 40 souches du Congo Belge, en signalent 39 rhamnose négatives, une légèrement positive. Ces auteurs, il est vrai, utilisent pour l'étude de la fermentation des sucres une technique particulière.

Baltazard et Aslani [9], sur 73 souches du Kurdistan, n'en trouvent aucune acidifiant le rhamnose. Heisch puis Girard [3], sur 22 souches glycérol positives du Kenya, n'en trouvent aucune attaquant le rhamnose.

Mais ce sont les travaux de Bezsonova et ceux des chercheurs de l'Institut de Saratov [1, 11, 14] qui, travaillant sur des souches glycérol positives, se sont le plus attachés à l'étude de ce problème. Ces auteurs avaient noté l'apparition de souches rhamnose positives après une longue conservation au laboratoire et pensaient avoir obtenu ainsi la transformation d'un bacille pesteux en bacille de la pseudo-tuberculose. Korobkova [11] obtenait des souches rhamnose positives par l'intermédiaire du bactériophage. La dissociation en variantes rhamnose positives avait été signalée par Berlin et Borzenkov [12] et par Tumansky [13]. Krainova [14] obtint les mêmes résultats, mais ayant échoué avec des cultures glycérol négatives et, en particulier, avec la souche EV, pensa qu'il s'agissait d'une propriété particulière aux souches glycérol positives (1).

Les résultats que nous avons obtenus confirment donc la possibilité de voir apparaître, lorsque le milieu leur est favorable, des souches de *Pasteurella pestis* capables d'utiliser le rhamnose. Ceci explique les acidifications tardives signalées par Pollitzer. Il semble qu'il s'agisse d'une propriété générale du bacille pesteux. L'examen du tableau montre, en effet, que les souches que nous considérons comme rhamnose négatives sont en fait celles pour lesquelles le nombre d'essais a été le plus faible. Il est hautement probable que si nous avions répété les expériences, nous aurions considérablement réduit, sinon annulé, le nombre de nos souches rhamnose négatives. On peut, à notre avis, considérer que le bacille pesteux, d'une manière presque constante, est capable dans certaines conditions d'utiliser le rhamnose, ou du moins fait apparaître des variants capables de l'utiliser.

Nos résultats montrent aussi qu'il n'est pas nécessaire, pour obtenir ces variants, de faire intervenir un bactériophage ni même d'utiliser des souches glycérol positives.

E. RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS. — L'étude du comportement à l'égard du rhamnose de 105 souches malgaches de *Pasteurella pestis* nous a montré

(1) La rédaction de ce travail était terminée lorsque nous avons eu connaissance, grâce à l'obligeance du Dr Girard que nous remercions, d'une note dactylographiée de E. Englesberg, datée de 1952, qui fut suivie de la parution d'un article in *Annual Rep. biol. Laboratory, Long Island biol. Assoc.* (1954-1955), p. 27-29, où cet auteur, étudiant 12 souches, dont 4 de Madagascar, signale avoir obtenu pour toutes des mutants utilisant le rhamnose.

que 2 souches, soit 1,9 p. 100, étaient d'emblée capables d'utiliser ce sucre.

De nombreuses souches sont susceptibles de faire apparaître des variants capables d'attaquer rapidement le rhamnose.

L'utilisation du rhamnose par *Pasteurella pestis* est une propriété assez générale de ce germe, au moins de ses souches malgaches, mais sa mise en évidence nécessite l'utilisation de milieux particulièrement favorables à la croissance du bacille pesteux.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] A. BEZSONOVA. *Rev. Microb. Saratov*, 1929, **8**, 458.
- [2] G. GIRARD et J. ROBIC. *Arch. Inst. Past. Tananarive*, 1937, **24** ; 1939, **29** ; 1950, **12** ; 1951, **28** ; 1952, **16**.
- [3] G. GIRARD. *Bull. O. M. S.*, 1953, **9**, 645.
- [4] R. POLLITZER. *Bull. O. M. S.*, 1953, **9**, 655.
- [5] R. DEVIGNAT et A. BOIVIN. *Bull. O. M. S.*, 1954, **10**, 463.
- [6] R. POLLITZER. *Bull. O. M. S.*, 1952, **5**, 73.
- [7] T. H. CHEN. *J. inf. Dis.*, 1949, **85**, 97.
- [8] R. DEVIGNAT et A. BOIVIN. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1951, **44**, 279.
- [9] M. BALTAZARD et P. ASLANI. *Ces Annales*, 1952, **83**, 241.
- [10] A. BEZSONOVA, G. LENSKAIA, P. MOLODTCOVA et O. MOSSOLOVA. *Rev. Microb. Saratov*, 1936, **45**, 151.
- [11] E. I. KOROBKOVA. *Rev. Microb. Saratov*, 1937, **16**, 18.
- [12] A. L. BERLIN et A. K. BORZENKOV. *Rev. Microb. Saratov*, 1938, **47**, 215, 238.
- [13] V. M. TUMANSKY. *Rev. Microb. Saratov*, 1939, **48**, 82.
- [14] A. KRAINOVA. *Rev. Microb. Saratov*, 1939, **48**, 91.

COMPORTEMENT DES LEVURES DU GENRE *CANDIDA* EN PRÉSENCE DE DIVERSES SUBSTANCES COLORANTES.

par E. R. BRYGOO et J. COURDURIER.

(Institut Pasteur de Madagascar)

L'action bactériostatique des substances colorantes est largement utilisée en bactériologie, les milieux qui font appel à ce principe sont d'un usage quotidien.

En mycologie, de nombreux auteurs étudièrent cette question. Le violet de gentiane fut le plus souvent utilisé (J. W. Churchman, E. W. et A. E. Stearn, E. S. Sanderson et D. C. Smith, E. B. Clark) [1]. En 1933, M. Moore donna une revue des travaux concernant l'action stérilisante des colorants dérivés du triphénylméthane [1].

Nous avons étudié le comportement de 69 souches du genre *Candida* en présence de 33 substances colorantes.

A. LES SOUCHES. — Les 69 souches de *Candida* utilisées pour ce travail provenaient de divers prélèvements d'origine humaine. Elles appartenaient aux espèces suivantes :

<i>Candida albicans</i>	21
<i>Candida parakrusei</i>	18
<i>Candida guillermonti</i>	11
<i>Candida krusei</i>	7
<i>Candida pelliculosa</i>	3
<i>Candida tropicalis</i>	2
<i>Candida</i> sp.	7

Les souches dont l'espèce n'a pas été déterminée avec précision appartiennent au groupe « azymatique » [2].

B. LES COLORANTS. — Les 33 substances colorantes utilisées peuvent se grouper selon la classification chimique proposée par Langeron [3] :

Colorant nitré : Acide picrique	1
Colorants azoïques : Chryzoïdine, vésuvine, vert janus, jaune de méthanile, orange G., Soudan III, rouge trypan, bleu trypan	8
Oxyquinone : Rouge d'alizarine	1
Quinone-imides dont : 6 thiazines (bleu de toluidine, bleu de méthylène, thionine, vert de méthylène, Azur I, Azur II) ; 1 oxazine (bleu de crésyl) ; 2 azines (safranine, vert Visba B)	9
Phénylméthanés dont : 1 diphenylméthane : pyronine ; 11 triphénylméthanés dont 7 rosanilines : fuchsine, violet de méthyl, vert de méthyl, vert malachite, vert brillant, vert lumière, bleu d'aniline ; 4 phtaléines : rose bengale, éosine, uranine, rhodochrome	12
Acridine : Gonacrine	1
Colorant naturel : Orcéine	1

Les colorants avaient été mis en solution au taux de 1 p. 100, soit dans de l'eau distillée, soit dans de l'alcool éthylique suivant leur solubilité.

C. LES TECHNIQUES. — Deux méthodes furent successivement utilisées.

Nous avons, dans un premier temps, éprouvé chacune des 69 souches vis-à-vis des 33 colorants par une technique de diffusion en gélose. Des pastilles de papier filtre de 1 cm de diamètre étaient immergées dans les solutions de colorants, séchées à l'étuve et conservées en tube. On préparait avec la souche à étudier, à partir d'une culture de quarante-huit heures sur gélose Langeron, une suspension dense en eau physiologique, cette suspension servait à inoculer de la gélose Langeron maintenue en surfusion, celle-ci était ensuite versée dans des boîtes de Petri. Après refroidissement, on déposait sur la surface de la boîte des disques colorés. Une boîte de Petri permettait de pratiquer 5 tests. Après quarante-huit heures d'étuve à 37°, on observait par transparence l'existence ou l'absence d'une zone d'inhibition.

Cette première série d'investigations fut complétée par une étude de l'action de 7 substances colorantes, en milieu liquide, à concentration

variable, sur 15 souches de *Candida*. Les dilutions des colorants étaient faites en milieu Langeron. L'ensemencement comprenait 1/20 de centimètre cube d'une culture de quarante-huit heures sur bouillon Langeron dans 5 cm³ de milieu coloré. Une lecture pour contrôle de l'action fungistatique était pratiquée après quarante-huit heures à 37°. Le lendemain (troisième jour), lorsqu'aucune culture n'était visible, on ensémençait un tube de gélose Langeron afin de rechercher une action fungicide éventuelle.

D. RÉSULTATS. — I. *Recherche de l'action inhibitrice en milieu solide.*

— 1° Dix-neuf colorants ne montrèrent aucune action inhibitrice en milieu solide pour les 69 souches étudiées, ce sont :

L'acide picrique ;
La vésuvine, le jaune de métanile, l'orange G, le Soudan III,
Le bleu et le rouge trypan ;
Le bleu de toluidine, le bleu de méthylène, le vert de méthylène, l'azur I et II ;
Le bleu de crésyl ;
Le vert lumière et le bleu d'aniline ;
Le rose bengale, l'éosine et l'uranine ;
L'orcéine.

Si, pour certains colorants comme le Soudan III, l'absence de diffusion visible pouvait rendre compte du manque d'action inhibitrice, pour la plupart on pouvait observer autour de la pastille une vaste zone de coloration intense qui ne semblait gêner en rien la prolifération de la levure. Pour ces 19 colorants, nous avons contrôlé l'absence d'action fungicide en procédant à des cultures à partir de la zone de gélose ayant été pendant quarante-huit heures en contact direct avec la pastille de papier coloré. Nous avons constamment réussi à recultiver la levure.

2° Sept colorants donnèrent des résultats variés, ce sont :

La chrysoidine et le vert janus ;
Le rouge d'alizarine ;
La thionine ;
La safranine et le vert Visba B ;
La fuchsine.

Avec ces substances les résultats furent irréguliers et difficiles à systématiser. Nous n'avons observé ni sensibilité particulière de telle ou telle espèce de *Candida* vis-à-vis de l'une des substances colorantes, ni fragilité particulière de telle ou telle souche à l'égard de l'ensemble des colorants. Le comportement des souches ne s'est même pas montré absolument constant au cours d'essais successifs. Si l'on tient compte du nombre total d'essais ayant mis en évidence un effet fungistatique, les sept colorants peuvent se classer par ordre d'activité croissante de la manière suivante :

Chrysoidine, 14/83 ; fuchsine, 15/82 ; rouge d'alizarine, 16/77 ; vert Visba B, 30/71 ; vert Janus, 41/86 ; safranine, 46/88.

3° Sept colorants se montrèrent constamment actifs, ce sont :

- La pyronine ;
- Le violet de méthyl, le vert de méthyl, le vert malachite, le vert brillant ;
- Le rhodochrome ;
- La gonacrine.

Six de ces sept colorants sont des dérivés du phénylméthane, 4 sont des triphénylméthanes rosanilines. Pour tous ces colorants l'action fungistatique, qui se traduisait par une zone d'inhibition nette autour de la pastille de papier, se doublait d'une action fungicide. La sub-culture de la gélose prélevée sous la pastille colorée ne permettait jamais d'isoler la levure initiale.

Le vert malachite donna constamment la plus large couronne d'inhibition, de 10 à 12 mm en moyenne. La pyronine, le vert de méthyl, le violet de méthyl et le vert brillant donnaient en général des zones d'inhibition de 4 à 10 mm de large, alors que rhodochrome et gonacrine avaient rarement des zones dépassant 3 mm de large.

II. *Action en milieu liquide à concentration variable.* — Nous avons essayé les 7 colorants qui s'étaient montrés constamment actifs en milieu solide, avec 15 souches : 8 de *C. albicans*, 3 de *C. parakrusei*, 2 de *C. guilliermondi*, 2 de *C. krusei*.

Avec le rhodochrome, à la dilution de 10^{-3} (la plus forte concentration essayée), aucune action fungistatique sur aucune des 15 souches. La croissance était parfois retardée par rapport au tube témoin, mais au troisième jour elle était toujours très nette.

La gonacrine et le vert de méthyl n'avaient aucune action à la concentration de 10^{-4} , mais ces deux colorants avaient une action fungistatique nette pour les 15 souches à la dilution de 10^{-3} ; l'action statique nulle à la concentration de 10^{-5} était doublée d'une action fungicide pour 4 souches avec le vert brillant et pour 8 souches avec la gonacrine.

Avec la pyronine l'action fungistatique, nulle à la concentration de 10^{-5} , était constante à 10^{-4} . Mais l'action fungicide qui touchait 5 souches sur 15 dès la dilution 10^{-4} n'en touchait encore que 11 à 10^{-3} . Donc 4 souches pour lesquelles une action fungistatique nette se lisait à la concentration de 10^{-4} , n'étaient pas détruites par un

EFFET	FUNGISTATIQUE				FUNGICIDE			
Dilution	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶
Rhodochrome	0				0			
Vert de méthyl	15	0			4	0		
Gonacrine	15	0			8	0		
Pyronine	15	15	0		11	5	0	
Violet de méthyl	15	15	12	0	15	13	7	0
Vert brillant	15	15	7	0	15	13	4	0
Vert malachite	15	15	4	0	15	10	1	0

contact de trois jours à la dilution de 10^{-3} . C'est avec la pyronine que la dissociation entre les deux actions nous a semblé la plus nette.

Pour les trois colorants restants : violet de méthyl, vert brillant et vert malachite, aucun colorant n'est actif à la concentration de 10^{-6} , les trois sont fungicides à 10^{-3} . Le tableau donne le détail des résultats observés.

Dans chaque case le chiffre indique le nombre de souches (sur 15) pour lesquelles une action fungistatique ou fungicide a été obtenue à la concentration correspondante.

En étudiant séparément le cas de chaque souche on constate qu'une résistance particulière à l'action d'un colorant ne se traduit pas par une résistance plus marquée à l'égard des autres. On constate également qu'il n'existe pas de différence nette dans le comportement des quatre espèces de *Candida* vis-à-vis des sept colorants essayés.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS. — Nous avons étudié l'action de 33 substances colorantes sur 69 levures du genre *Candida*. L'étude comporta, d'une part la recherche de l'inhibition en milieu solide et, d'autre part pour 7 colorants, le calcul des taux fungicides et fungistatiques en milieu liquide. Les colorants les plus actifs sont le violet de méthyl, le vert brillant et le vert malachite.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] In M. LANGERON et R. VANBREUSEGHEM. *Précis de Mycologie*. Masson, 1952, p. 412.
- [2] E. DROUHET et M. COUTEAU. *Ces Annales*, 1954, **86**, 602.
- [3] In M. LANGERON. *Précis de Microscopie*. Masson, 1949, p. 535.

DU RÔLE DES PLAQUETTES ET DES HÉMOCONIES DANS LA DÉFENSE ANTIMICROBIENNE

par L. DUCHON.

(Laboratoire de Secteur de l'Hôpital Trousseau.)

La fonction antixénique des plaquettes a fixé l'intérêt depuis longtemps, avec Achard, Aynaud, Delrez et Govaerts, Le Fèvre de Arric, Roskam, etc.

C'est autour de la fonction d'adhésivité des plaquettes aux bactéries qu'ont gravité surtout les recherches. Or, l'emplaquettement, ainsi bien mis en évidence, n'est peut-être qu'un phénomène second et il nous semble qu'il a suscité un cloisonnement étanche des fonctions de cet organisme. C'est ainsi, comme nous le montrerons, que la fonction antixénique nous paraît dépendre aussi d'une fonction complémentaire : l'édification fibrineuse.

Quant aux hémocoïnes, leur rôle s'est imposé à nous connexe de celui des plaquettes et fort loin d'un rôle purement digestif.

A la suite de nos travaux sur la phagocytose provoquée [4] réalisée entre lame et lamelle surélevée, il nous est apparu que la constitution des amas nodaux, plaquettes, phagocytes, micro-organismes, et de tout l'appareil fibrineux méritait une certaine attention du point de vue de l'édification défensive spontanée de l'organisme. Ce qui nous a conduit aux expérimentations suivantes.

EXPÉRIMENTATION. — (Cette expérimentation et toutes celles qui suivront ont été réalisées à l'aide du contraste de phase indispensable et du fond noir.)

1° Observons concurremment, à la température du laboratoire, deux préparations de sérum prélevé à la surface d'un sang du jour très exactement citraté, soit 0,5 cm³ de solution de citrate de soude à 10 p. 100 pour 15 cm³ de sang bien mélangé et bien décanté.

La première préparation sera une gouttelette déposée au centre d'une cellule constituée par un fragment de tissu en matière plastique très fin, de la dimension de la lamelle mais largement perforé en son centre, qui aura été passé dans la paraffine fondue puis refroidi et collé à chaud sur la lame. On recouvre d'une lamelle qui sera lutée.

La deuxième préparation sera identique à la première, sauf que, non munie de tissu, la lamelle écrasera sans soutien le sérum.

Ces préparations seront observées dans les heures et jours qui suivent.

Après équilibre statique et en progressant vers le bas, sur la première lame, on remarque que l'on rencontre tout d'abord la couche des hémocoïnes, sphérules d'inégal volume, plus ou moins nombreuses suivant le sang, animées de mouvements browniens violents et, sur le plan le plus inférieur, la couche presque exclusive des plaquettes à mouvements plus calmes. Tel que, *l'aspect peut durer des jours.*

Sur la deuxième lame, l'aspect, similaire au début, ne tarde pas à se modifier et en fonction de l'épaisseur de la lame sérique. Les hémocoïnes se raréfient, en même temps que la face inférieure de la lamelle se tache de mouchetures très fines qui ne sont autres que ces éléments que l'on peut surprendre se fixant sur elle. Les plaquettes ont tendance à s'agglutiner, elles paraissent s'altérer prenant un aspect métamorphique et s'immobilisent. Parfois, à la suite de ces immobilisations et en fonction de la citration, des filaments de fibrine apparaissent. L'aspect n'est pas toujours uniforme, l'épaisseur de la couche liquide étant plus mince sur les bords. Ces altérations ont été jusqu'ici attribuées au vieillissement rapide.

Cette différence de constat impose donc, pour l'étude de la physiopathologie de ces organismes, la nécessité absolue des observations sous lamelle surélevée, *qui restera l'unique dispositif au long de ces travaux.* Notion qui ne nous paraît pas avoir retenu l'attention.

2° Nous avons été amené tout d'abord à considérer qu'hémocoïnes et plaquettes ont des relations si étroites qu'elles pourraient bien être

les éléments d'un même système, et nous abordons là le système de la défense anti-microbienne.

On pourra utiliser le dispositif précédent en ajoutant une fine gouttelette d'une suspension aqueuse très pauvre de staphylocoques, recueillie sur gélose de vingt-quatre heures. Mais l'observation sera plus aisée, en raison de la raréfaction des plaquettes, en procédant comme suit.

Une goutte du sérum citraté, fortement centrifugé, est déposée sur une lame. Dans cette goutte, on ajoute une ôse de 4 mm de diamètre d'un fil de platine très fin (15/100 mm), du même sérum non centrifugé et une ôse d'une suspension de staphylocoques, germe très favorable en raison de son immobilité et de sa toxine coagulante. On recouvrira d'une lamelle, dont l'un des bords restera suspendu sur un très mince fragment de fil de verre ; on lutera soigneusement (1). La rapidité de l'observation varie avec l'abondance du germe, mais peut demander des heures.

Avec une infinie patience, on constate :

a) Que les hémococonies présentes ne tardent pas à augmenter de volume ; que, toujours sous l'influence de la toxine, d'autres prennent naissance, de-ci de-là, dans le voisinage des plaquettes sans qu'il soit permis d'en inférer une filiation : à la limite de la visibilité, au départ, on les voit grossir et se confondre peu à peu avec les sphérules voisines. On a alors souvent l'impression que les mouvements browniens de l'un de ces éléments semblent se synchroniser avec ceux de la dentrite particulièrement accusée d'une plaquette sous-jacente et en une même trajectoire, comme s'ils étaient reliés. De fait, dès ce moment, dans certaines conditions, quand la sphérule tangente le rayon visuel qui va à la dentrite, un aspect filamenteux les reliant peut devenir visible. Nous remarquerons de plus, et la photographie le précise, que sur ces préparations et parfois sur la face inférieure de la lamelle où elle vient souvent se fixer, l'hémococonie tend à prendre l'aspect de tête de Gorgone avec de très fins et courts filaments irradiant de sa périphérie, filament parfois unique qu'elle remorque.

Ce dispositif filamenteux, invisible au début en raison sans doute de sa transparence, de sa ténuité, de sa vibration, est pour nous l'amorce d'une formation seconde de nature fibrineuse parce que, celle-ci une fois apparue, reste indélébile (ultérieurement nous aurons à préciser ce point).

L'hémococonie, au voisinage des plaquettes, nous paraît alors s'imposer comme un ballonnet de sustentation soutenant le filament qui la relie à la plaquette, réalisant ainsi, dans l'ensemble, un réseau de défense passive établi sur le chemin des corps étrangers, comme le précisent les photographies ;

b) En effet, si on suit un coccus, on peut se rendre compte, précédant l'apparition de la fibrine et sans connexion visible, qu'une plaquette de voisinage, parfois qu'un groupe de plaquettes, suit sa trajectoire due aux pérégrinations browniennes.

(1) Cette pratique, par la variation de l'épaisseur de la lame sérique, permettra de trouver facilement la zone la plus favorable à l'observation.

L'arrêt du coccus marque l'arrêt de la plaquette et quelque temps après la liaison se matérialise par un filament fibrineux, progressivement grossissant, tendu de l'un à l'autre.

(L'arrêt du coccus n'apparaît pas toujours spontané, il peut se présenter un phénomène particulier : autour du coccus on observera les longues et irrégulières évolutions d'une sphérule, puis assez brusquement on aura quelquefois la chance exceptionnelle d'observer la prise de contact des deux corps et leur fixation synchrone par l'arrêt des mouvements browniens. Suivant l'orientation, on peut constater alors que la sphérule est fixée comme un parasite sur le corps du coccus.)

En prolongeant l'observation, on remarque que des filaments apparaissent de plus en plus nombreux, irradiant du coccus. Au début parfois flexueux, ils finissent par se tendre rectilignes dans toutes les directions et jusqu'à des plaquettes ou hémococonies plus ou moins éloignées. On voit aussi parfois le dispositif gorgonien de la sphérule fixant dans ses rêts un ou plusieurs cocci. En fait, l'hémococonie nous apparaît comme un corpuscule colloïde précipité sous l'influence de la toxine (ce qui pourrait être une explication de leur abondance lors du passage des éléments toxiques de la digestion).

A ces contacts, d'ailleurs plus ou moins rapidement, le coccus gonflé ou enrobé perd son aspect.

Fait remarquable, à constater dès maintenant, jamais dans de telles conditions il n'y a accolement des corps étrangers par les plaquettes.

Cette physiologie de l'hémococonie et de la plaquette sera précisée ultérieurement, en de véritables schémas expérimentaux.

Une fois la construction fibrineuse réalisée, le dispositif général est constitué de formations rayonnées articulées les unes aux autres dont les centres sont les uns la plaquette, les autres le coccus. Surtout au stade précoce de la formation du réseau, les filaments émanés de la plaquette témoignant du rôle de l'hémococonie sustentatrice se dirigent vers le haut. On pourra remarquer qu'ils sont ponctués de-ci de-là et souvent aux entrecroisements, ponctuation faite de sphérules fixées, accentuant ainsi la formation étoilée. Au fur et à mesure que l'édification fibrineuse approche de son terme on observe la disparition quasi totale des hémococonies mobiles, la fonte plus ou moins complète des plaquettes.

Dans les préparations riches en plaquettes la participation de la plaquette au filage de la fibrine se révèle nettement : plus la fbrination est belle, plus les plaquettes se raréfient et on observe certaines d'entre elles suspendues sur les fils, qui vont s'amenuisant jusqu'à disparition comme si elles étaient en relais de l'armature du filament.

Toutefois, si, comme le veulent les travaux antérieurs (Wolf, Achard et Aynaud), le filament fibrineux peut apparaître en dehors de la présence des plaquettes, sa qualité nous a toujours paru nettement fonction de sa présence.

La fixation du micro-organisme par une hémococonie est fort délicate à observer ; elle est peut-être une exception dans le mécanisme de la défense. Le fil de fibrine constitué d'une substance colloïde rétractile a lui, nettement pour fonction, l'englucement des corps étrangers.

En dehors du fait observé de la fixation et immobilisation totale et brutale d'un coccus sur le fil de fibrine, on peut matérialiser au besoin cet engluement par la photographie, de la façon suivante.

Fixons sur une lame bien parallèlement aux bords longs par deux points de soudure à la paraffine un fil des plus fins (un cheveu lavé à l'éther donnera les meilleurs résultats).

Laissons tomber sur le fil une goutte de sérum d'un sang citraté au minimum (1), mais dilué de dix volumes du même sérum fortement centrifugé. On aura ajouté à raison de deux gouttes pour dix de sérum, une culture sur bouillon T de staphylocoque âgée de 3 ou 4 jours, diluée elle-même au 1/10 avec du bouillon T. On recouvre délicatement d'une lamelle bien parallèlement à la lame et on lute.

La lame est immobilisée sur la platine du microscope d'un côté par un valet fixe, de l'autre côté l'extrémité du cheveu est fixée à la potence de la platine mobile, de telle façon que les tractions par la crémaillère se fassent bien parallèlement aux bords de la lame. On fait sauter les points de soudure et après un certain temps, la mise au point étant faite sur le cheveu, à l'aide de la crémaillère on imprime par à-coups espacés des mouvements très doux et courts. Dans de bonnes conditions, on constate que, assez rapidement, les plaquettes, hémocories ou cocci qui avoisinent le cheveu et même plus ou moins éloignés, suivent les tractions, mais avec retard ; en prenant comme repère le bord du champ on les voit entrer d'un côté, sortir de l'autre, et cela avant toute formation de fibrine, comme si le tout était entraîné dans une masse visqueuse élastique.

Puis, un aspect lisse apparaît contemporain de la précipitation fibrineuse sous forme de filaments qui se tendent par la traction, parallèles et ayant leur point d'application sur le cheveu.

Différentes constatations peuvent être faites alors :

a) Le rôle d'arrêt joué par le système fibrineux dans l'infection : sur les filaments les cocci sont fixés, fixation précisée par la perte totale des mouvements browniens.

Si l'on a utilisé un streptocoque de faible activité fibrinolytique, la chaînette plus ou moins longue peut être fixée en plusieurs points sur plusieurs filaments. Mais on peut aussi apercevoir la chaînette, fixée seulement en une de ses extrémités, subir des mouvements de battant de cloche sous l'influence de légères tractions.

Le système fibrineux est donc un filet tendu sur le chemin des micro-organismes pouvant réaliser cette simple fonction sur un organisme d'une certaine dimension, mais en même temps filet à mailles engluées, de matière colloïde, pouvant fixer un organisme plus petit et à l'aise à travers les mailles.

b) On peut se rendre compte encore de l'élasticité de la fibrine : elle se tend en remorquant le corps étranger avec retard ; de sa rétractilité, du fait de tractions trop violentes des ruptures se produisent et sous l'œil le filament se rétracte comme un élastique rompu.

c) Il est remarquable encore d'observer ici la participation de la plaquette au filage de la fibrine : *précocement*, dès la formation du réseau, exerçons des tractions ; de part et d'autre du cheveu les fils

(2) 0,5 cm³ de solution de citrate à 10 p. 100 pour 18 à 20 cm³ de sérum.

se tendent et on voit alors les plaquettes s'étirer, s'amenuiser, disparaître quand dans la zone statique voisine elles restent intactes.

En résumé, au moyen du microscope à contraste de phase et par le moyen simple mais indispensable de préparations sous lamelles surélevées, on peut assister, sous l'influence de la toxine coagulante du staphylocoque, à la construction de l'architecture fibrineuse. A cette construction collaborent deux éléments : les plaquettes et les hémocories, qui, en dehors de propriétés propres à chacune d'elles, ont pour rôle commun celui de jalons de précipitation du fil de fibrine et aussi de fiches d'amarrage de ces fils. Ce dispositif ainsi tendu s'impose comme un réseau de défense passive établi au-devant de l'envahissement microbien.

BIBLIOGRAPHIE

[1] L. DUCHON. *Ces Annales*, 1952, **82**, 221.

PHOTOGRAPHIE ÉLECTRONIQUE DU VIRUS FIXE DE LA RAGE

par ALEXANDRE KARPAROFF.

(*Chef du Service des Virus, Institut d'Epidémiologie
et de Microbiologie, Sofia, Bulgarie.*)

Des cerveaux de lapins infectés avec le virus fixe de la rage sont fixés pendant quatre heures dans l'éther pour que le tissu cérébral dans lequel se trouve le virus soit débarrassé des lipoïdes et des graisses qui ne sont pas perméables aux électrons. Les cerveaux sont ensuite plongés pendant vingt heures dans de l'eau physiologique, dans laquelle diffuse le virus fixe. Cette eau physiologique donne des préparations très réussies pour la photographie électronique du virus.

Le virus fixe de la rage a une forme sphérique ou légèrement ovoïde, avec des dimensions de 100 à 300 m μ . Dans les préparations métallisées au chrome, l'ombre portée par le virus met bien en relief sa forme sphérique (fig. 1).

L'inoculation subdurale des lapins et des cobayes avec le matériel examiné provoque la rage avec une incubation et les caractères cliniques typiques du virus fixe de la rage.

Dans les préparations faites suivant cette méthode avec des cerveaux de lapins sains, on n'observe pas ces mêmes corpuscules.

M. LÉPINE. En présentant cette communication de M. Karparoff, je désire faire remarquer que ses images peuvent effectivement être des photographies du virus rabique, mais que notre collègue n'en

a néanmoins pas apporté la preuve. En dehors du cas où l'on observe le virus *in situ* au sein de tissus, la simple description morphologique d'un ou plusieurs corpuscules isolés vus au microscope électronique ne peut être considérée comme démonstrative si l'on n'apporte au moins la preuve que des variations dans la concentration de ces corpuscules accompagnent des variations parallèles de la virulence et



FIG. 1. — Virus fixe. Grossissement $\times 15\,000$. Ombrage au chrome.
Photomontage montrant quatre corpuscules.

que le matériel observé présente le même comportement physico-chimique (résistance, etc.) que celui reconnu au virus.

D'autre part, un détail me paraît troublant : d'après la description succincte de cette technique, l'auteur obtient le virus par diffusion dans le milieu ambiant, phénomène autrefois décrit par Remlinger. Il n'indique point qu'il procède à une concentration du virus, par centrifugation, par exemple. Dans ces conditions, on doit penser que la diffusion du virus dans l'eau physiologique apporte un facteur de dilution important à un virus dont la concentration dans le tissu cérébral ne doit guère dépasser 10^4 à 10^5 . Dans ces conditions, les chances d'apercevoir un seul corpuscule au microscope électronique (vu le volume des prélèvements et les dimensions du champ du microscope) sont pratiquement infimes. On peut se demander si ce

que l'auteur a photographié n'est pas en fin de compte le matériel lipoprotidique qui s'échappe du tissu névraxique préalablement traité par l'éther, traitement qui a, on le sait, pour effet de lui donner une grande friabilité.

MESURE RAPIDE DE L'HÉMOLYSE AU PHOTOMÈTRE SANS GAMME NI CENTRIFUGATION

par PIERRE VELU et MAURICE VELU.

Deux sortes de méthodes quantitatives sont utilisées en sérologie pour mesurer l'hémolyse : celles qui se contentent d'une appréciation grossière à l'œil nu, sans échelle, et celles qui opèrent par comparaison avec une gamme colorimétrique (Desmoulières, Vernes), ou opacimétrique (Kolmer). Ces dernières techniques comportent certains inconvénients : la perte de temps occasionnée par la préparation d'une gamme ou par la centrifugation des éléments de la gamme et des échantillons à titrer [1, 3, 4]. Nous nous sommes demandé s'il ne serait pas possible de les éviter.

Pour le vérifier nous avons étudié comparativement au photomètre de Lagaillarde, avec l'écran vert et la cuve de 2 mm, les gammes suivantes (tableau I), du type Kolmer, constituées par des mélanges :

1° de suspension globulaire (S. glob.) et de solution d'hémoglobine (S. hém.) ;

TABLEAU I.

Tubes	GAMME I		GAMME II		GAMME III	
	S. hém.	S. glob.	S. hém.	S. phys.	S. glob.	S. phys.
1	2 cm ³	0,00	2 cm ³	0,00	0,00	2 cm ³
2	1,50	0,50	1,50	0,50	0,50	1,50
3	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
4	0,50	1,50	0,50	1,50	1,50	0,50
5	0,00	2,00	0,00	2,00	2,00	0,00

2° de solution d'hémoglobine et de sérum physiologique (S. phy.) ;
3° de suspension globulaire et de sérum physiologique.

Ces gammes artificielles qui résultent du mélange en proportions inverses de deux des constituants de l'hémolyse représentent :

- a) la troisième, les globules non hémolysés ;
- b) la seconde, l'hémoglobine libérée par l'hémolyse avec les stromas globulaires correspondants ; ;
- c) la première, le mélange de ces constituants de l'hémolyse.

LES ÉLÉMENTS DE CETTE RÉACTION sont préparés de la façon suivante :

a) La suspension globulaire, à partir d'une suspension-mère, bien homogénéisée (à 2 p. 100 de purée globulaire de mouton), qu'on dilue dans une éprouvette graduée, à raison de 1 cm³ dans une quantité de sérum physiologique de N cm³, suffisante pour avoir une lecture nette au photomètre ;

b) La solution d'hémoglobine, dans une éprouvette graduée, à partir de 1 cm³ également de la suspension-mère de globules, bien homogénéisée, à laquelle on ajoute N-N/10 cm³ d'eau distillée pour obtenir l'hémolyse (réalisée au bout de quelques minutes [2, 5]), puis N/10 cm³ de solution aqueuse de chlorure de sodium à 85 p. 1 000 pour rétablir l'isotonie de l'ensemble. Cette solution hémoglobinique paraît suffisamment stable ainsi [5], sans addition d'autre produit [4]. Sa teneur en stromas globulaires est exactement la même que celle de la suspension de globules non hémolysés.

RÉSULTATS. — La lecture au photomètre de Lagailarde (cuve de 2 mm, écran vert) faite après agitation des produits pour homogénéisation nous a donné les résultats suivants (tableau II).

TABLEAU II.

Tubes	GAMME I		GAMME II	GAMME III
	S.hém.+S.glob.	Hémolyse %	S.hém.+S.phy.	S.glob.+S.phy.
1	4,50	100 %	5,00	0,00
2	9,25	75	3,50	6,00
3	15,50	50	2,50	13,00
4	20,00	25	1,25	18,50
5	25,00	0	0,00	24,50

La densité optique du tube 1 de la gamme I peut être considérée comme représentant la totalité de l'hémoglobine libre (et des globules rouges hémolysés), comme le tube 1 de la gamme II, tandis que le tube 5 de la gamme I représente la totalité des globules rouges (avec leur hémoglobine non libérée), comme le tube 5 de la gamme III.

On notera que les valeurs opacimétriques obtenues avec la gamme I représentent à très peu de chose près la somme des valeurs enregistrées avec les tubes correspondants des gammes II et III. Il est évident que si les tubes de la gamme II avaient été centrifugés, les densités auraient été très légèrement inférieures à celles enregistrées et la comparaison des tubes 1 de la gamme I et II n'aurait plus été possible [3, 4].

Pour confirmer la valeur de ces résultats, les mêmes essais ont été effectués avec un autre photomètre (photomètre de Meunier, écran vert, cuve 1 cm) et d'autres concentrations, dont voici un exemple pris au hasard (tableau III).

TABLEAU III

Tubes	GAMME I		GAMME II	GAMME III
	S.hém.+S.glob.	Hémolyse %	S.hém.+S.phy.	S.glob.+S.phy.
I	16	100 %	18	0
2	26	90	17	12
3	38	80	15	24
4	51	70	13	36
5	63	60	11	45
6	72	50	9	60
7	83	40	7	72
8	94	30	5	86
9	102	20	3	98
10	113	10	1	109
11	119	0	0	119

EXPRESSION GRAPHIQUE DES RÉSULTATS. — A partir des chiffres obtenus avec le photomètre de Lagaillarde après plusieurs essais, nous avons construit les courbes correspondant à chacune des 3 gammes. Elles sont figurées dans la fig. 1 dans laquelle les densités optiques sont portées en ordonnées : *ce sont des droites*.

Dans les conditions où nous nous sommes placés, il semble bien que :

1° La courbe II (S. hém. + S. phy.) est surtout colorimétrique, fonction de la teneur en hémoglobine ; les stromas ne jouent qu'un

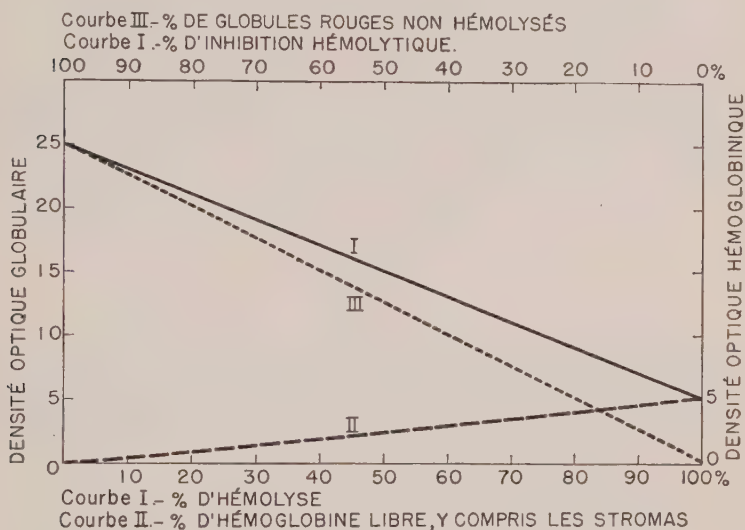


FIG. 1.

rôle insignifiant en raison de leur taux de dilution ; c'est la raison qui nous a fait choisir l'écran vert [5], qui permet le titrage de l'hémoglobine et de la densité globulaire ;

2° La courbe III (S. glob. + S. phy.), surtout opacimétrique, ne dépend que du nombre des globules rouges, d'où l'élimination de l'écran rouge [6] qui ne permettrait pas de tenir compte de l'hémoglobine dans l'établissement de la courbe I ;

3° La courbe I (S. hém. + S. glob.) représente la somme des densités optiques précédentes :

a) celle des globules rouges non hémolysés (courbe III) ;

b) celle de l'hémoglobine libérée et des stromas globulaires correspondants (courbe II) qui n'interviennent pratiquement pas.

Grâce à la pente de cette courbe I, il est possible et même facile, dans la pratique courante, de déterminer rapidement, au photomètre, avec une précision convenable, le taux d'hémolyse sans gamme ni centrifugation : au lieu de tracer la courbe I des densités optiques totales (globules hémolysés ou non et hémoglobine libre), nous exami-

nerons seulement deux points de l'inhibition de cette hémolyse ; dans le cas du tableau II la densité optique était de 5 lorsque cette inhibition était nulle et de 25 quand elle était de 100 p. 100 ; si nous nous arrangeons pour que l'inhibition nulle corresponde au zéro du photomètre, l'inhibition à 100 p. 100 sera de $25 - 5 = 20$. Chaque graduation correspondra alors à $100/20$, soit à 5 p. 100 d'inhibition hémolytique.

En résumé, les réactions d'hémolyse donnent avec le photomètre (écran vert) deux points : celui de l'hémolyse nulle et celui de l'hémolyse totale (100 p. 100). La courbe représentative du phénomène est une droite. Il est facile de la tracer ou de faire un calcul pour avoir rapidement le pourcentage d'hémolyse (à une erreur de 5 p. 100 près) d'un produit quelconque, sans avoir à faire de centrifugation préalable, ni établir de gamme spéciale. Il est aisé de voir l'intérêt que cette constatation peut offrir pour l'examen de divers problèmes pratiques de sérologie (étude des systèmes hémolytiques), ou d'hématologie (mesure de la résistance globulaire), que nous examinerons ultérieurement.

BIBLIOGRAPHIE

- [4] R. DEMANCHE. *Précis de technique du sérodiagnostic de la syphilis*. Doin, édit., 1952, p. 127.
- [2] VILLARET et coll. *Travaux sur la cinélyse* (cités par FIESSINGER : *Diagnostic biologique et fonctionnel*. Maloine, édit., 6^e édit., p. 257).
- [3] PANGBORN et coll. *Cardiolipin antigens* ; World Health Organisation Monograph series, Genève, 1951, p. 31.
- [4] P. ROULIER. *C. R. Soc. Biol.*, 1948, **142**, 128.
- [5] M. PIETTE. *C. R. Soc. Biol.*, 1945, **139**, 653.
- [6] A. DOGNON et Y. SIMONOT. *C. R. Soc. Biol.*, 1948, **142**, 617.

Les communications suivantes paraissent ou paraîtront en *Mémoire* dans les *Annales de l'Institut Pasteur* :

L'action de l'isonicothydrazone de la métrasulfobenzaldéhyde (605 G) sur la tuberculose expérimentale du cobaye. II. Après inoculation de bacilles tuberculeux streptomycino-résistants, par A. LUTZ et M^{me} M. A. WITZ.

Méthode simplifiée d'identification des *Enterobacteriaceae* ne fermentant pas rapidement le lactose, par R. BUTTIAUX, J. MORIAEZ et J. PAPAVASSILIOU.

Photorestauration de bactéries dépourvues de porphyrines, par R. LATARJET et M. BELJANSKI.

Sur l'immune-adhérence du staphylocoque : mise en évidence d'un système antigène-anticorps spécifique, par R. KOURILSKY, J. PILLET et R. PIÉRON.

Sur un critère du pouvoir pathogène des brucelles, par H. JACOTOT, A. VALLÉE et A. LE PRIOL.

Identification en France du virus de la variole du canari ou virus de Kikuth, par H. JACOTOT, A. VALLÉE et L. REINIÉ.

Action partiellement inhibitrice du bouillon nutritif sur la croissance de *Pasteurella pestis*, par A. GIRARD.

Au sujet de souches cristallophores entomophytes de *B. cereus*. Considérations sur les inclusions cristallines et leur origine possible, par C. TOUMANOFF.

Développement du virus grippal et pH du liquide allantoïque de l'œuf embryonné. V. Action acidifiante et inhibitrice des sels d'ammonium, par B. FAUCONNIER.

AVIS

Les élèves et anciens élèves de l'Ecole supérieure des Sciences économiques et commerciales de l'Institut catholique de Paris ont décidé d'attribuer en 1956, comme ils l'ont fait les années précédentes, un prix de 100 000 fr. au moins à l'auteur, homme ou femme, français ou étranger, du meilleur travail de recherche sur le cancer, effectué en France ou dans l'Union Française, inédit ou publié au cours des trois dernières années.

Ce travail devra être écrit en français et parvenir à la Ligue française contre le Cancer, 6, avenue Marceau, Paris (8^e), accompagné d'une lettre de candidature, avant le 25 décembre 1955.

LIVRES REÇUS

Houben-Weyl. — *Methoden der organischen Chemie*, 4^e édition complètement remise à jour. Volume 4, 2^e partie : Méthodes chimiques générales, 1 004 p., 77 fig. Georg Thieme, édit., Stuttgart, 1955. Prix : 152 DM.

Comme plusieurs des volumes précédents de cette série, le 4^e volume des *Methoden der organischen Chemie* a dû être dédoublé en deux tomes par suite de l'extension prise par de nombreux secteurs de la chimie organique.

Le 2^e tome comprend 10 chapitres et est consacré presque pour moitié à la catalyse. Après un rappel théorique permettant de situer chaque réaction catalytique, on y trouve un chapitre consacré à la préparation des catalyseurs, qui s'adresse aussi bien à l'industrie qu'au labo-

ratoire de recherches, et une étude extrêmement complète des réactions de catalyse tant en milieu homogène qu'en milieu hétérogène.

Deux chapitres plus brefs sont consacrés aux réactions pyrochimiques et aux réactions électrochimiques. En ce qui concerne ce dernier sujet, une lacune est ainsi comblée, aucun ouvrage récent ne traitant de cette branche de la chimie un peu négligée de nos jours.

Après un chapitre sur l'obtention de corps optiquement actifs, nous trouvons une étude qui est presque une monographie sur la préparation des composés organiques marqués.

Ziegler expose la chimie des composés macrocycliques en une centaine de pages particulièrement intéressantes.

Les deux derniers chapitres enfin abordent l'utilisation d'enzymes ou d'organismes vivants pour la transformation de produits organiques et, d'une façon très sommaire, les problèmes techniques posés dans ce cas par l'emploi de microorganismes.

La physionomie générale de ce volume est différente de celle des volumes précédemment parus. Il fait le point, à l'aide de tableaux extrêmement utiles, des techniques générales, en renvoyant aux volumes spéciaux pour les applications particulières à chaque fonction. Certains de ses aspects intéresseront plus spécialement les laboratoires industriels, mais il offrira à tous les organiciens une excellente vue d'ensemble des sujets abordés.

P. K.

Tumeurs broncho-pulmonaires. Exposés anatomo-cliniques présentés par

A. Policard, J. Delarue, P. Galy, J. Paoli, H. Metras, J. Charpin, P. Laval, H. Gastaut et J. Dor. 1 vol., 146 p., 91 fig., Masson édit., Paris, 1955. Prix : 1 000 fr.

L'ouvrage réunit les conférences qui ont été prononcées par différents auteurs au cours des « Entretiens anatomo-cliniques » de Marseille en 1954. Il envisage les méthodes de diagnostic du cancer bronchique, les rapports entre l'anatomie pathologique et la clinique, la question des métastases, des interventions chirurgicales, la classification anatomo-pathologique des cancers bronchiques, etc. La conclusion de tous ces travaux, tirée par le professeur Paoli, est que la connaissance des faits établis doit permettre aux malades d'être soignés plus tôt et dans des conditions meilleures et plus propices à la guérison.

H. T.

Z. M. Bacq et P. Alexander. — *Principes de Radiobiologie.* 1 vol., 478 p., 136 fig., Masson édit., Paris, 1955. Prix : 4 250 fr.

Comme l'indique le professeur Gray dans sa préface, les auteurs ont eu pour but de présenter l'état actuel des recherches dans ce vaste domaine, tâche difficile en raison de la variété des disciplines qu'il faut passer en revue. Le livre s'adresse donc aux radiothérapeutes, aux physico-chimistes, aux radiobiologistes et cancérologues et à tous ceux qui, pour une raison quelconque, s'intéressent à l'utilisation de l'énergie atomique. Il attire tout spécialement l'attention sur l'aspect chimique de l'action des radiations, qui semble, à mesure que les recherches progressent, de plus en plus important. Les divers chapitres sont consacrés aux effets des radiations sur la matière et dans les phénomènes cytologiques et génétiques, aux substances dont l'action ressemble

à celle des radiations ionisantes, à l'effet de l'oxygène en radiobiologie, à la biochimie des organismes irradiés, à la protection contre les rayonnements et, en particulier, à la protection par les substances chimiques, etc. Une dernière partie étudie les conséquences des deux bombardements atomiques d'Hiroshima et Nagasaki. La bibliographie comporte 960 références ; c'est assez dire le nombre et la variété des travaux qui sont passés en revue. H. T.

Jean Brisou. — *Microbiologie du milieu marin*. 1 vol., 271 p., Masson édit., Paris, 1955. Prix : 1 100 fr.

L'auteur, médecin de la marine et professeur à diverses Ecoles de Médecine Navale, s'est livré depuis vingt-cinq ans à l'étude des divers problèmes posés par la microbiologie du milieu marin. Dans une première partie, il examine les caractères de la flore microbienne de ce milieu, les différents cycles (carbone, azote, soufre, fer, phosphore) qui entretiennent cette vie, la question de la luminescence, les espèces bactériologiques des fonds marins et leurs rapports avec le problème des pétroles, celles des plages, la bactériologie des coquillages et fruits de mer, et enfin les techniques d'étude microbiologique du milieu marin. La seconde partie est entièrement consacrée à une nouvelle classification des espèces microbiologiques maritimes. Comme le souhaite l'auteur, ce livre sera un instrument de travail précieux pour tous ceux qu'intéresse la microbiologie du milieu marin ; ils y trouveront réunies toutes les données que, jusqu'ici, aucun traité d'ensemble ne présentait. Il reste encore bien des problèmes à résoudre et l'auteur les a lui-même signalés, en espérant qu'ils serviront de point de départ à de nouvelles recherches. H. T.

Some physiological aspects and consequences of parasitism. 1 vol., 90 p., Rutgers University Press, New Brunswick, édit., 1955. Prix : 2 dollars.

Dans le cadre de son programme de recherches sur le métabolisme des protéines, le Bureau of Biological Research de la Rutgers University publie les conférences qui ont été faites au cours de l'année 1954. Elles sont au nombre de six, chacune d'elles comportant de nombreuses illustrations et une bibliographie : *Culture des parasites du paludisme*, par L. A. Trager ; *Le métabolisme protéique des parasites intracellulaires*, par J. W. Moulder ; *La physiologie de l'intestin et les rapports hôte-parasite*, par C. P. Read ; *Les enzymes glycolytiques de « Schistosoma mansoni »*, par E. Bueding ; *La formation des anticorps*, par W. H. Taliaferro, et *Les leishmaniasés et le hamster*, par L. A. Stauber. H. T.

La Progénèse. — *Travaux et Documents du Centre International de l'Enfance*. Tome VIII, publié sous la Direction du professeur R. Turpin. 1 vol., 720 p., 56 fig., Masson édit., Paris, 1955. Prix : 3 500 fr.

L'étude de la progénèse, c'est-à-dire « les conditions qui peuvent influencer sur l'enfant avant sa conception », fait appel à de très nombreuses disci-

plines : anthropologie, démographie, génétique, gamétologie, sociologie. Toutes les questions qui s'y rapportent sont traitées ici par des spécialistes de différents pays. L'ouvrage est divisé en cinq parties, consacrées aux mécanismes de l'hérédité, à l'évolution du patrimoine héréditaire au sein des populations, à l'étude du couple et de l'individu (réalisation du phénotype, action des facteurs externes sur la lignée gamétique, aptitude à la fécondation, etc.). La dernière traite des applications sociales de la progénèse et des questions d'eugénisme. Ainsi l'ouvrage ne s'adresse pas seulement aux médecins, pédiatres ou accoucheurs, il sera aussi un instrument de travail très utile pour les généticiens et les hygiénistes.

H. T.

F. Klose. — *Impfschutz als Aufgabe und Förderung der öffentlichen Gesundheitspflege*. 1 fascicule, 35 p., Georg Thieme Verlag, édit., Stuttgart, 1955. Prix : DM 3.—

Il s'agit du second opuscule publié par les Services de Santé du Ministère de l'Intérieur de l'Allemagne de l'Ouest. Il passe rapidement en revue les différents types de vaccins : vaccins vivants atténués, vaccins tués, anatoxines, les divers moyens d'atténuation, les résultats obtenus (disparition de la variole), l'attitude des populations vis-à-vis de la vaccination, puis dit quelques mots des vaccinations les plus souvent pratiquées : contre la variole, la diphtérie (les résultats divers obtenus dans différents pays sont longuement discutés), la scarlatine, la rougeole, la fièvre typhoïde (devenue inutile depuis l'avènement des antibiotiques), la tuberculose, le tétanos. Le fascicule présente également un bref résumé des conclusions du rapport de Francis sur l'expérience américaine en ce qui concerne la poliomyélite. Enfin l'auteur discute les vaccinations qui peuvent être rendues obligatoires et celles qui doivent rester facultatives. Une bibliographie sommaire complète le travail.

H. T.

M. Albeaux-Fernet. — *Endocrinologie du médecin praticien*. 1 vol., 628 p., 146 fig., Masson édit., Paris, 1955. Prix : broché, 2 600 fr ; cartonné toile, 3 200 fr.

Ce livre s'adresse au clinicien et fait le point des connaissances actuelles sur les problèmes d'endocrinologie, dont le nombre et l'importance ne cessent de croître. Aux maladies endocriniennes caractérisées par des modifications morphologiques, s'ajoutent maintenant bien d'autres affections : affections gynécologiques, perturbations fonctionnelles, manifestations pathologiques de l'enfance, troubles du caractère et du comportement, etc. L'ouvrage est divisé en trois parties : I. Anatomie, physiologie et exploration clinique du système endocrinien ; II. Pathologie endocrinienne de l'enfance et des divers âges de la vie ; III. Emploi thérapeutique des hormones. On voit l'ampleur et la complexité des sujets traités. Des tableaux récapitulatifs, de nombreuses figures et une table des constantes endocriniennes facilitent la lecture du texte.

H. T.

- E. L. Hazen et F. C. Reed.** — *Laboratory identification of pathogenic fungi simplified*. 1 vol., 108 p., 22 pl., Ch. C. Thomas édit., Springfield, Ill., U. S. A., édit. Prix : \$ 5,50.

Ce petit livre est destiné aux bactériologistes qui désirent acquérir également des connaissances en mycologie. Il présente d'une façon extrêmement claire les différentes espèces de champignons pathogènes (de l'Amérique du Nord seulement). Il est divisé en deux parties : Mycoses superficielles et Mycoses profondes. L'aspect macroscopique et microscopique de chaque espèce, ses caractéristiques culturales, les milieux sur lesquels elle cultive sont brièvement décrits et une planche hors texte, comportant plusieurs figures, accompagne chacune de ces descriptions. Un Appendice donne la composition des différents milieux usuels et des références sont citées en fin d'ouvrage pour chacune des mycoses étudiées.

H. T.

- P. Cazal.** — *La masse sanguine et sa pathologie. Troubles de la volémie et chocs*. 1 vol., 327 p., 92 fig., 56 tabl. Masson et C^{ie}, édit., 1955. Prix : broché, 1 800 fr. ; cartonné toile, 2 400 fr.

Cet important et excellent volume, de plus de 300 pages, a pour objet l'étude de la masse sanguine et des troubles dont elle est l'objet. L'ouvrage est divisé en 14 chapitres où sont réunis tous les renseignements concernant les propriétés physiques et chimiques du sang : la densité, la viscosité, la stabilité, le volume du sang et de ses constituants, les variations de ce volume, les constituants protéiques et non protéiques du sang. Un important chapitre traite de l'hémodynamique, des conditions anatomo-physiologiques de la circulation, des pressions et débits circulatoires. Le diagnostic étiologique des modifications pathologiques de la masse sanguine est exposé avec clarté et précision. Sont successivement étudiés : les chocs potentiels ou chocs chroniques, les chocs neurogènes, toxiques, asphyxiques et cardiogènes, les conséquences des chocs hémorragiques et plasmorragiques, les chocs complexes, traumatiques, les chocs opératoires et obstétricaux.

Le réanimateur peut donc, après avoir pris connaissance des données physio-pathologiques, faire le choix des moyens thérapeutiques qu'il doit mettre en œuvre suivant qu'il se trouve en présence d'une volémie avec ou sans choc ou d'un choc isolé.

L'ouvrage se termine par quelques aphorismes sur la masse sanguine et sa pathologie, un index alphabétique des auteurs et des sujets traités.

A. E.

- Henrique Furtado Portugal.** — *Educação sanitária e a mulher*. 16 p. Imprensa Oficial, Belo Horizonte, 1954.

TABLE ALPHABÉTIQUE PAR NOMS D'AUTEURS

DU TOME 89

Notice nécrologique.

† JOHN WIRTH (1914-1954)	672
------------------------------------	-----

ACHARD (M.-L.). — Voir SEIGNEURIN (R.).	
ALIX (D.). — Voir DESBORDES (J.).	
ANDRÉ (J.). — Voir FLOCH (H.).	
ATANASIU (P.), EDIPIDES (T.) et BASSET (J.). — Données nouvelles sur l'hémolysine du virus de Newcastle. Action des hautes pressions	523
AUDRIN (J.). — Voir TISON (F.).	
AUGIER (J.). — Voir LAVERGNE (D.).	
BALDUCCI (D.) et FELICI (A.). — Contribution au diagnostic expérimental de la fièvre boutonneuse	128
BARJAC (H. de) et POCHON (J.). — Appréciation de la microflore tellurique anaérobie active sur le soufre organique	591
BARSKI (G.) et LAMY (M.). — Etude en cultures cellulaires du virus encéphalomyélitique Mengo	318
— MESSORE (G.) et LÉPINE (P.). — L'exsudat péritonéal artificiel, source de cellules pour la culture des virus <i>in vitro</i>	366
— LAMY (M.) et LÉPINE (P.). — Culture de cellules trypsinées de lapin et leur application à l'étude des virus du groupe herpétique	415
BASSET (J.). — Voir ATANASIU (P.).	
BAZIN (S.). — Voir DELAUNAY (A.).	
BÉGUIN (S.). — Voir DELAPORTE (B.).	
BÉNACERRAF (B.), HALPERN (B.-N.), STIFFEL (C.), CRUCHAUD (S.) et BIOZZI (G.). — Phagocytose d'une fraction du sérum chauffé et iodé par le S. R. E. et comportement consécutif de ses cellules à l'égard d'autres colloïdes	601
BÉQUIGNON (R.) et VIALAT (Ch.). — Les vaccinations antirabiques à l'Institut Pasteur, en 1954	194
BERTRAND (L.) et ROUX (J.). — Isolement d'une souche de <i>Coxiella burnetii</i> à l'occasion d'une rechute de fièvre Q humaine	131

BESSON (A.), DESBORDES (J.), ROSENSTOCK (O.), PELLETIER (J.) et GUYOTJEANNIN (Ch.). — Contribution à l'étude bactériologique de l'air à Paris. I	514
BEUMER (J.) et BEUMER-JOCHMANS (M.-P.). — Importance de l'hôte bactérien pour les besoins en calcium d'un bactériophage.	394
BEUMER-JOCHMANS (M.-P.). — Voir BEUMER (J.).	
BIOZZI (G.). — Voir BÉNACERRAF (B.).	
BOQUET (P.) et IZARD (Y.). — Modifications de la formule leucocytaire au cours de l'intoxication expérimentale par l'antigène O du bacille typhique	679
BOYER (F.) et CHABBERT (Y.). — Etude comparée de l'action du chloramphénicol et de l'association pénicilline-streptomycine sur l'infection expérimentale de la souris avec <i>S. enteritidis</i>	246
BRUYET (P.), DELAUNAY (A.) et MEIGNIEN (Ch.). — L'équipement des macrophages en phosphomonoestérases.	45
BRYGOO (E.-R.) et COURDURIER (J.). — Action <i>in vitro</i> des antibiotiques sur 101 souches malgaches de <i>Pasteurella pestis</i>	118
— — Comportement des souches malgaches de <i>Pasteurella pestis</i> à l'égard du rhamnose	688
— — Comportement des levures du genre <i>Candida</i> en présence de diverses substances colorantes	692
BURDIN (J.-C.). — Voir LAVERGNE (E. de).	
CASTELLANI (A.). — Action phagocytaire et destructrice de <i>Hartmannella castellanii</i> (<i>Amoeba castellanii</i>) sur un champignon levuriforme encapsulé pathogène, <i>Torulopsis neoformans</i> (<i>Cryptococcus neoformans</i>)	1
— Note préliminaire sur un nouveau microcoque isolé d'une dermatite axillaire superficielle tropicale	475
CHABBERT (Y.). — Etudes <i>in vitro</i> sur la spiramycine. Activité, résistance, antibiogramme, concentrations humorales	434
— Voir BOYER (F.).	
CHALLUT (F.). — Voir SOHIER (R.).	
CHAMBON (L.). — Isolement du bacille de Whitmore à partir du milieu extérieur	229
CHARDONNET (Y.). — Voir SOHIER (R.).	
CHAUSSINAND (R.) et VIETTE (M.). — Etude de la coloration des bacilles acido-alcool-résistants par le Noir Soudan	280
CHRISTOL (D.). — Voir GASTINEL (P.).	
COURDURIER (J.). — Voir BRYGOO (E. R.).	
COURTOIS (G.), SEGRETAIN (G.), MARIAT (F.) et LEVADITI (J.-C.). — Mycose cutanée à corps levuriformes observée chez des singes africains en captivité	124
CROISSANT (O.), LÉPINE (P.) et WYCKOFF (R.-W.-G.). — Recherches sur l'ultrastructure des corps de Negri examinés au microscope électronique	183

- — Voir LÉPINE (P.).
- Voir VAGO (C.).
- CRUCHAUD (S.). — Voir BÉNACERRAF (B.).
- DELAPORTE (B.) et BÉGUIN (S.). — Etude d'une souche de *Bacillus*, pathogène pour certains insectes, identifiable à *B. thuringiensis* Berliner 632
- DELAUNAY (A.), HÉNON (M.), PELLETIER (M.) et BAZIN (S.). — L'agglutination des grains d'amidon par différents sérums. Nature du phénomène 675
- Voir BRUYET (P.).
- Voir VOISIN (G.).
- DELCOUR (G.). — Voir OYE (E. van).
- DESBORDES (J.), FOURNIER (E.) et ALIX (D.). — Action des substances colorantes sur les Mycobactéries. V. Influence de l'agitation sur la fixation des colorants 470
- Voir BESSON (A.).
- DOMERGQ (S.). — Voir PEYNAUD (E.).
- DROUHET (E.). — Voir SEGRETAIN (G.).
- DROUHET (V.). — Etude comparative de la sensibilité des cultures de tissu rénal de *Cercopithecus aethiops sabaeus* et de *Macacus philippinensis* aux virus poliomyélitiques . . . 666
- DUCHON (L.). — Du rôle des plaquettes et des hémocories dans la défense antimicrobienne 696
- EDIPIDES (T.). — Voir ATANASIU (P.).
- EYQUEM (A.), SAINT-PAUL (M.) et MAGNIN (J.). — Contribution à l'étude des phytoagglutinines et de leur rôle au cours des syndromes hémolytiques expérimentaux 60
- Voir FINE (J.).
- Voir PODLIACHOUK (L.).
- FAUCONNIER (B.). — Développement du virus grippal et pH du liquide allantoïque de l'œuf embryonné. IV. Action des substances acides 101
- FAURE (M.). — Voir PAUTRIZEL (R.).
- FELICI (A.). — Voir BALDUCCI (D.).
- FINE (J.) et EYQUEM (A.). — Les substances de groupes sanguins A et B. Evaluation de leur activité immunologique . . . 460
- FLOCH (H.) et ANDRÉ (J.). — Présence de *H. capsulatum* dans le sol guyanais 505
- FOURNIER (E.). — Voir DESBORDES (J.).
- GALLUT (J.). — Contribution à l'étude de la toxine cholérique. Influence de la température d'incubation sur le pouvoir toxigène *in vitro* de *V. cholerae* (Inaba) 242
- GASTINEL (P.) et CHRISTOL (D.). — Contribution à l'étude de l'allergie dans la tuberculose expérimentale du cobaye, avec étude histologique du phénomène de Koch 481

GAUTHERIE (J.). — Voir HINGLAIS (H.).	
GEOFFROY (M.). — Voir GUILLAUMIE (M.).	
GIRARD (G.). — Comportement <i>in vivo</i> et <i>in vitro</i> de <i>P. tularensis</i> isolée au cours de l'évolution de la tularémie chez des hôtes diversement réceptifs	137
GIROINE (M.). — Voir PRÉVOT (A.-R.).	
GLEYE (M.), SANDOR (G.) et LEVADITI (J.). — Etude humorale de la maladie sérique expérimentale du lapin	299
GOETHEM (R. VAN). — Voir OYE (E. VAN).	
GRASSET (E.). — Observations comparées sur la production <i>in vivo</i> et <i>in vitro</i> de formes L de <i>Proteus vulgaris</i> et <i>Klebsiella pneumoniae</i> sous l'influence d'anticorps spécifiques	111
GUILLAUMIE (M.), KREGUER (A.) et GEOFFROY (M.). — Comparaison de différentes préparations de toxines <i>perfringens</i> A	377
GUYOTJEANNIN (Ch.). — Voir BESSON (A.).	
HALPERN (B.-N.). — Voir BÉNACERRAF (B.).	
HAMON (Y.) et LEWE (Z.-V.). — Etude de l'induction par l'irradiation U. V. de quelques cultures d' <i>E. coli</i> K 12 préalablement rendues colicinogènes par transduction	336
HARDRÉ DE LOOZE (L.). — Voir LAPORTE (R.).	
HAUDUROY (P.). — Un nouveau groupe de Mycobactéries, « Les Mycobactéries anormales »	673
HAZEN (E.-L.). — Voir MARIAT (F.).	
HÉNON (M.). — Voir DELAUNAY (A.).	
HERBOUILLER (M.). — Voir PRÉVOT (A.-R.).	
HINGLAIS (H.), HINGLAIS (M.), GAUTHERIE (J.) et LANGLADE (M.). — Etude du pouvoir microbicide et du pouvoir antibiotique de la gelée royale sur le bacille de Koch	684
HINGLAIS (M.). — Voir HINGLAIS (H.).	
IZARD (Y.). — Voir BOQUET (P.).	
JACOTOT (H.), VALLÉE (A.) et VIRAT (B.). — Apparition en France d'un mutant naturellement atténué du virus de Sanarelli.	361
— — — Etude d'une souche atténuée de virus du myxome Uriarra III d'Australie	8
— — — Sur la conservation et la destruction dans les peaux du virus de la myxomatose des lapins	290
JEZIEWSKI (A.). — Action cytopathogène des 3 prototypes de virus de la poliomyélite <i>in vitro</i> sur les tissus de différentes espèces de singes d'Afrique centrale. Non réceptivité des tissus de certains animaux	78
— Préparation du sérum contre la poliomyélite sur l'âne. Séparation de l'immuno-gamma-globuline et sa valeur	206
KARPAROFF (A.). — Photographie électronique du virus fixe de la rage	701

- KOURILSKY (R.), PIÉRON (R.), KOURILSKY (S.), ROBINEAUX (R.) et VOISIN (G.). — Recherches sur le mécanisme du phénomène de l'immune-adhérence 273
- KOURILSKY (S.). — Voir KOURILSKY (R.).
- KRÉGUER (A.). — Voir GUILLAUMIE (M.).
- LAMY (M.). — Voir BARSKI (G.).
- LANGLADE (M.). — Voir HINGLAIS (H.).
- LAPORTE (R.), HARDRÉ DE LOOZE (L.) et SILLARD (R.). — Contribution à l'étude du complément. I. Inactivation spontanée dans les conditions de l'hémolyse. Action protectrice des ions calcium 16
- LAPRESLE (C.). — Etude de la dégradation de la sérumalbumine humaine par un extrait de rate de lapin. II. 654
- LAVERGNE (D.) et AUGIER (J.). — Numération de la microflore et microstructure des sols. I. Analyse et synthèse 447
- LAVERGNE (E. de), BURDIN (J.-C.) et SCHMITT (J.). — Recherches sur l'antagonisme direct d'*E. coli* vis-à-vis du staphylocoque 115
- LAVILLAUREIX (J.). — Voir MINCK (R.).
- LE BEAU (J.). — Voir MARIAT (F.).
- LE MINOR (L. et S.), NICOLLE (P.) et OLITZKI (A.-L.). — Un nouveau type d'*E. coli* 55 : B5 (antigène H32) 241
- LE MINOR (S.). — Voir LE MINOR (L.).
- LÉPINE (P.). — Voir BARSKI (G.).
 — Voir CROISSANT (O.).
 — Voir SLIZEWICZ (P.).
 — Voir VAGO (C.).
- LEVADITI (J.-C.). — Voir COURTOIS (G.).
- LEWE (Z.-V.). — Voir HAMON (Y.).
- LOISELEUR (J.). — Variations du nombre des groupes fonctionnels libres au cours de la dénaturation d'un sérum par la chaleur et le formol 152
- LUCE (J.-P.). — Les disques séchés pour l'étude du métabolisme glucidique microbien 132
- LUTZ (A.) et WITZ (M.-A.). — L'action *in vitro* de l'isonicotthydrazone de la métrasulfobenzaldéhyde (605 G) sur des souches de *b. tuberculeux* 236
 — L'action de l'isonicotthydrazone de la métrasulfobenzaldéhyde (605 G) sur la tuberculose expérimentale du cobaye. I. Après l'inoculation de *b. tuberculeux* sensibles à la streptomycine et à l'INH et traitement *per os* 327
- MAGNIN (I.). — Voir EYQUEM (A.).
- MAGNIN (R.). — Voir SEIGNEURIN (R.).
- MALGRAS (J.). — Voir SARTORY (R.).

MARIAT (F.). — Action de la nystatine, de la streptomycine et de la pénicilline sur la croissance de <i>Sporotrichum schencki</i> .	261
MARIAT (F.), HAZEN (E.-L.), LE BEAU (J.) et TESTARD (E.). — Nocardiose humaine à abcès cérébraux multiples ; étude bactériologique	256
— Voir COURTOIS (G.).	
— Voir SEGRETAINE (G.).	
MARSELOU (U.). — Sur une onychomycose à <i>Trichophyton rosaceum</i> .	265
MAZUREK (C.). — Etude d'une variété pigmentée de <i>Leptotrichia inornata</i>	268
MEIGNIEN (Ch.). — Voir DELAUNAY (A.).	
MESSORE (G.). — Voir BARSKI (G.).	
MEYER (J.). — Voir SARTORY (R.).	
MINCK (R.) et LAVILLAUREIX (J.). — Pouvoir pathogène expérimental pour la souris de certains <i>E. coli</i> de gastro-entérites infantiles	582
MOUREAU (M.). — Recherches biochimiques sur les tréponèmes anaérobies. II. <i>T. minutum</i>	127
MUTSAARS (W.). — Multiplication du bactériophage dans les proto-plastes de <i>B. subtilis</i>	166
NELSON (R. A. Jr.). — Voir ROBINEAUX (R.).	
NICOLLE (P.). — Voir LE MINOR (L.).	
OLITZKI (A.-L.). — Voir LE MINOR (L.).	
ODIN (J.). — L'analyse immuno-chimique par la méthode des gels. Moyens et techniques d'identification des antigènes . . .	531
OYE (E. VAN), DELCOUR (G.) et GOETHEM (R. VAN). — Un nouveau sérotype de <i>Salmonella</i> (<i>S. kalamu</i>) isolé au Congo belge.	587
PAUTRIZEL (R.), SZERSNOVICZ (F.) et FAURE (M.). — Influence de quelques facteurs physico-chimiques sur les réactions sérologiques dans la syphilis. Cas de la réaction de Kline. .	621
PEILLARD (M.-M.). — Voir SOHIER (R.).	
PELLETIER (J.). — Voir BESSON (A.).	
PELLETIER (M.). — Voir DELAUNAY (A.).	
PELLISSIER (A.) et TRINQUIER (E.). — Le virus humain dit « encéphalomyélique de Brazzaville » est en réalité un virus poliomyélique type 1. Les caractères biologiques anormaux de ce virus tropical	198
PEYNAUD (E.) et DOMERCQ (S.). — Sur les espèces de levures fermentant sélectivement le fructose	346
PIÉCHAUD (D.), SZTURM-RUBINSTEN (S.) et PIÉCHAUD (M.). — A propos de 25 souches de <i>Sh. dysenteriae</i> 2 isolées dans la France d'outre-mer	462
— Voir SZTURM-RUBINSTEN (S.).	
PIÉCHAUD (M.). — Voir PIÉCHAUD (D.).	
PIÉRON (R.). — Voir KOURILSKY (R.).	

- POCHON (J.). — Voir BARJAC (H. de).
- PODLIACHOUK (L.) et EYQUEM (A.). — Etude d'un antigène hétérophile commun aux globules rouges humains et à *Neisseria meningitidis*, type B 408
- POCHON (J.). — Technique de préparation des suspensions-dilutions de terre pour analyse microbiologique 464
- PRÉVOT (A.-R.) et SILLIOT (R.). — Une énigme biologique : chat et botulisme 354
- TRICHÉREAU (R.), GIROINE (M.), HERBOUILLER (M.) et THOUVENOT (H.). — Nouvelles recherches sur le pouvoir pathogène d'*Inflabilis sanguicole* pour l'homme 352
- REBEYROTTE (P.). — Voir SLIZEWICZ (P.).
- ROBINEAUX (P.) et NELSON (R. A. Jr.). — Etude par la microcinématographie en contraste de phase et à l'accélééré du phénomène d'immune-adhérence et de la phagocytose secondaire 254
- Voir KOURILSKY (R.).
- ROSENSTOCK (O.). — Voir BESSON (A.).
- SAENZ (A.). — Le vaccin BCG et le hamster 83
- SAINT-PAUL (M.). — Voir EYQUEM (A.).
- SARTORY (R.), MEYER (J.), MALGRAS (J.) et SUPPIGER (H.). — Recherche et dosage des principaux facteurs de croissance dans le milieu Vf pour bactéries anaérobies 358
- SCHMITT (J.). — Voir LAVERGNE (E. de).
- SCHOLTENS (Th.). — Vi-phage typing of *S. typhi*. Extension of Vi-type group E and observations on group « 29 » 216
- SEGRETAINE (G.) et DROUHET (E.). — Blastomycoses expérimentales du hamster doré 593
- MARIAT (F.) et DROUHET (E.). — Sur *Cladosporium trichoides* isolé d'une mycose cérébrale 465
- Voir COURTOIS (G.).
- SEIGNEURIN (R.), ACHARD (M.-L.) et MAGNIN (R.). — Fixation et transport des antibiotiques par les hématies 72
- MAGNIN (R.) et ACHARD (M.-L.). — Types d'*E. coli* isolés des eaux d'alimentation 473
- SILLARD (R.). — Voir LAPORTE (R.).
- SILLIOT (R.). — Voir PRÉVOT (A.-R.).
- SLIZEWICZ (P.), REBEYROTTE (P.) et LÉPINE (P.). — Action des sels sur la vitesse de sédimentation des lipoprotéines 428
- SOHIER (R.), PEILLARD (M.-M.), CHALLUT (F.) et CHARDONNET (Y.). — La réaction de fixation du complément pour le diagnostic de l'infection herpétique. I 489
- STIFFEL (C.). — Voir BENACERRAF (B.).
- SUPPIGER (H.). — Voir SARTORY (R.).

- SZTURM-RUBINSTEN (S.) et PIÉCHAUD (D.). — Action des *Shigella* sur le milieu à l'acide phényl-propionique 589
 — Voir PIÉCHAUD (D.).
- SZERSNOVICZ (F.). — Voir PAUTRIZEL (R.).
- TARDIEUX (P.). — Contribution à l'étude du genre *Spherophorus*. Recherche du pouvoir hémagglutinant 686
- TESTARD (E.). — Voir MARIAT (F.).
- THOUVENOT (H.). — Voir PRÉVOT (A.-R.).
- TISON (F.) et AUDRIN (J.). — Critique des résultats de la méthode au teepol dilué pour l'isolement du b. de Koch 121
- TOUMANOFF (C.). — Au sujet de souches cristallophores entomophytes de *cereus*. Considérations sur les inclusions cristallines. 644
- TRICHÉREAU (R.). — Voir PRÉVOT (A.-R.).
- TRINQUIER (E.). — Voir PELLISSIER (A.).
- VAGO (C.), CROISSANT (O.) et LÉPINE (P.). — Démonstration au microscope électronique du développement intranucléaire du virus de la grasserie 364
 — LÉPINE (P.) et CROISSANT (O.). — Mise en évidence du virus de la granulose (pseudograsserie) de *Pieris brassicae* L. 458
- VALLÉE (A.). — Voir JACOTOT (H.).
- VELU (M.). — Voir VELU (P.).
- VELU (P.). — Technique simple de prélèvement de sang chez le lapin 585
 — et VELU (M.). — Mesure rapide de l'hémolyse au photomètre sans gamme ni centrifugation 703
- VIALAT (Ch.). — Voir BÉQUIGNON (R.).
- VIETTE (M.). — Voir CHAUSSINAND (R.).
- VIEU (J.-F.). — Intérêt de certains antibiotiques fungiques pour l'isolement rapide des levures pathogènes chez l'homme. 250
- VIRAT (B.). — Voir JACOTOT (H.).
- VOISIN (G.) et DELAUNAY (A.). — Sur les lésions testiculaires observées chez des animaux soumis à des injections de substances adjuvantes seules ou mélangées avec des extraits de tissus homologues 307
 — — Mise en évidence d'un état d'iso- ou d'auto-sensibilisation au moyen du choc anaphylactique 556
 — — Voir KOURILSKY (R.).
- WITZ (A.-M.). — Voir LUTZ (A.).
- WYCKOFF (R.-W.-G.). — Voir CROISSANT (O.).

TABLE ANALYTIQUE

DU TOME 89

<i>Adjuvants</i> . Lésions testiculaires des animaux soumis à des injections de substances adjuvantes, seules ou mélangées à des extraits de tissus homologues	307
<i>Agglutination</i> . L'— des grains d'amidon par différents sérums.	675
<i>Air</i> . Etude bactériologique de l'— à Paris	514
<i>Amibes</i> . Action phagocytaire de <i>Hartmanella castellanii</i> (<i>Amoeba castellanii</i>) sur un <i>Torulopsis neoformans</i>	1
<i>Anaérobies</i> . Variété pigmentée de <i>Leptotrichia innominata</i>	268
— Pouvoir pathogène d' <i>Inflabilis sanguicole</i> pour l'homme	352
— Recherche et dosage des facteurs de croissance dans le milieu Vf pour —	358
— Pouvoir hémagglutinant des germes du groupe <i>Spherophorus</i> .	686
— Voir aussi <i>Tréponèmes</i> .	
<i>Anaphylaxie</i> . Voir <i>Sensibilisation</i> .	
<i>Antagonisme</i> . — direct d' <i>E. coli</i> vis-à-vis du staphylocoque	115
<i>Antibiotiques</i> . Fixation et transport des — par les hématies.	72
— Action comparée du chloramphénicol et de l'association pénicilline-streptomycine sur l'infection de la souris par <i>S. enteritidis</i> var. Danyasz	246
— Action <i>in vitro</i> des — sur <i>P. pestis</i>	118
— fongiques pour l'isolement rapide des levures pathogènes	250
— Voir aussi <i>B. tuberculeux</i> , <i>Champignons</i> , <i>Salmonella</i> , et aux différents antibiotiques.	
<i>Antigènes</i> . Un — hétérophile commun aux globules rouges humains et à <i>Neisseria meningitidis</i> type B	408
— Mise en évidence de trois groupements spécifiques différents dans le motif antigénique de l'albumine humaine	654
<i>Bacilles acido-alcoolo-résistants</i> . — Coloration des — — — par le Noir Soudan	280
<i>Bacille tuberculeux</i> . Critique des résultats de la méthode du teepol dilué pour l'isolement du — —	121
— Action <i>in vitro</i> de l'isonicotylhydrazone de la métasulfo-benzaldéhyde (605 G) sur le — —	236
— Action du 605 G sur le cobaye tuberculeux	327

<i>Bacille tuberculeux</i> . Pouvoir microbicide et antibiotique de la gelée royale sur le —	684
<i>Bacille de Whitmore</i> . Isolement du — — à partir du milieu extérieur	229
BCG. Le vaccin — et le hamster	83
<i>Bactériophage</i> . Multiplication du — dans les protoplastes de <i>B. subtilis</i>	166
— Lysotypie de <i>S. typhi</i> . Extension du groupe E du type Vi et observations sur le groupe 29	216
— Induction par irradiation U. V. d' <i>E. coli</i> K12 préalablement rendues colicinogènes par transduction	336
— Importance de l'hôte bactérien pour les besoins en calcium d'un —	394
<i>Blastomycoses</i> . — expérimentale du hamster doré	593
<i>Botulisme</i> . Chat et —	354
<i>Champignons</i> . Action de la nystatine, de la streptomycine et de la pénicilline sur la croissance de <i>Sporotrichum schencki</i>	261
— Onychomycose à <i>Trichophyton rosaceum</i>	265
— Un <i>Cladosporium trichoides</i> isolé d'une mycose cérébrale	465
— Présence de <i>H. capsulatum</i> dans le sol guyanais	505
— Comportement des <i>Candida</i> en présence de diverses substances colorantes	692
— Voir aussi <i>Amibes</i> , <i>Antibiotiques</i> , <i>Mycose</i> .	
<i>Choléra</i> . Influence de la température d'incubation sur le pouvoir toxigène <i>in vitro</i> de <i>V. cholerae</i>	242
<i>Colicine</i> . Voir <i>Bactériophage</i> .	
<i>Colorants</i> . Voir <i>Mycobactéries</i> .	
<i>Complément</i> . Inactivation spontanée dans les conditions de l'hémolyse. Action protectrice des ions calcium	16
<i>Coziella burneti</i> . Voir <i>Fièvre Q</i> .	
<i>Culture</i> . Voir <i>Herpès</i> .	
<i>Disques</i> . Voir <i>Métabolisme</i> .	
<i>Encéphalomyélite</i> . Voir <i>Mengo</i> , <i>Poliomyélite</i> .	
<i>Enzymes</i> . Voir <i>Macrophages</i> .	
<i>Escherichia coli</i> . Un nouveau type d'— —	244
— Types d'— — isolés des eaux d'alimentation	473
— Pouvoir pathogène pour la souris de certains — — de gastro-entérites infantiles	582
— Voir aussi <i>Antagonisme</i> .	
<i>Fermentation</i> . Les espèces de levures fermentant sélectivement le fructose	346
<i>Fièvre boutonneuse</i> . Diagnostic expérimental de la — —	128
<i>Fièvre Q</i> . Isolement d'une souche de <i>Coziella burneti</i> à l'occasion d'une rechute de — —	131
<i>Formes L</i> . Production <i>in vitro</i> de — — de <i>P. vulgaris</i> et <i>K. pneumoniae</i> sous l'influence d'anticorps spécifiques	111

<i>Gelée royale.</i> Voir <i>B. tuberculeux</i> .	
<i>Granulose.</i> Voir <i>Insectes</i> .	
<i>Grasserie.</i> Voir <i>Insectes</i> .	
<i>Grippe.</i> Action inhibitrice de substances acides sur le développement du virus grippal dans l'œuf	101
<i>Groupe sanguins.</i> Evaluation de l'activité immunologique des substances A et B	460
<i>Hamster.</i> Voir <i>BCG</i> , <i>Blastomycoses</i> .	
<i>Hématies.</i> Voir <i>Antibiotiques</i> .	
<i>Hémolyse.</i> Mesure rapide de l'— au photomètre	703
<i>Herpès.</i> Culture des virus du groupe de l'— en cellules trypsinées de rein de lapin	415
— Réaction de fixation du complément dans l'—	489
<i>Immunochimie.</i> Identification des antigènes par la méthode des gels	531
<i>Immune-adhérence.</i> Microcinématographie en contraste de phase et à l'accélééré du phénomène d'— —	254
— Mécanisme du phénomène de l'— —	273
<i>Insectes.</i> Démonstration au microscope électronique du développement intranucléaire du virus de la grasserie	364
— Mise en évidence du virus de la granulose de <i>Pieris brassicae</i> L.	458
— Une souche de <i>Bacillus</i> pathogène pour certains — et identifiable à <i>B. thuringiensis</i> Berliner	632
— Les inclusions cristallines des souches cristallophores entomophytes de <i>cereus</i>	644
<i>Ions.</i> Voir <i>Complément</i> .	
<i>Levures.</i> Voir <i>Antibiotiques</i> , <i>Champignons</i> , <i>Fermentation</i> .	
<i>Lysotypie.</i> Voir <i>Bactériophage</i> .	
<i>Macrophages.</i> L'équipement des — en phosphomonoestérases	45
<i>Maladie sérique.</i> Etude humorale de la — — expérimentale du lapin	299
<i>Mengo.</i> Culture <i>in vitro</i> du virus —	318
<i>Métabolisme.</i> Les disques séchés pour l'étude du — glucidique microbien	132
<i>Microcoque.</i> Un nouveau — isolé d'une dermatite axillaire superficielle tropicale	475
<i>Mycobactéries.</i> Action des substances colorantes sur les — ; influence de l'agitation sur la fixation des colorants	470
— Les — « anormales »	673
<i>Mycose.</i> — cutanée à corps levuriformes chez des singes africains en captivité	124
Voir aussi <i>Champignons</i> .	
<i>Myxome.</i> Une souche atténuée du virus du — (Uriarra III d'Australie).	8

— Conservation et destruction dans les peaux du virus du — . . .	290
— Apparition en France d'un mutant naturellement atténué du virus de Sanarelli	361
<i>Negri (Corps de). Voir Rage.</i>	
<i>Newcastle.</i> Action des hautes pressions sur l'hémolysine du virus de —	523
<i>Nocardiose.</i> — humaine à abcès cérébraux multiples ; étude bactériologique	256
<i>Noir Soudan. Voir Bacilles acido-alcool-résistants.</i>	
<i>Pasteurella pestis.</i> Comportement des souches malgaches de — — à l'égard du rhamnose	688
— Voir aussi <i>Antibiotiques.</i>	
<i>Pasteurella tularensis. Voir Tularémie.</i>	
<i>Phagocytose.</i> — du sérum chauffé et iodé par le S. R. E. . . .	601
<i>Phytoagglutinines.</i> Rôle au cours des syndromes hémolytiques expérimentaux.	60
<i>Plaquettes sanguines.</i> Rôle des — — et des hémocories dans la défense antimicrobienne	696
<i>Poliomyélite.</i> Action cytopathogène des trois types de virus sur les tissus de singes d'Afrique Centrale ; non-réceptivité des tissus de certains animaux	78
— Caractères biologiques anormaux du virus tropical dit « encéphalomyélitique de Brazzaville »	198
— Préparation d'un immunosérum sur l'âne ; séparation de la globuline gamma et sa valeur	206
— Sensibilité comparée des cultures de tissu rénal de <i>Cercopithecus</i> et de <i>Macacus</i> aux virus de la —	666
<i>Protoplastes. Voir Bactériophage.</i>	
<i>Rage.</i> Ultrastructure des corps de Negri au microscope électronique	183
— Vaccinations antirabiques à l'Institut Pasteur en 1954 . . .	194
— Photographie électronique du virus de la —	701
<i>Salmonella.</i> Nouveau type de — isolé au Congo belge, <i>S. kalamu</i> .	587
— La formule leucocytaire au cours de l'infection expérimentale par l'antigène O du bacille typhique	679
— Voir aussi <i>Antibiotiques.</i>	
<i>Sanarelli. Voir Myxome.</i>	
<i>Sédimentation.</i> Action des sels sur les vitesses de — des lipoprotéines	428
<i>Sensibilisation.</i> Mise en évidence d'un état d'iso- ou d'auto-sensibilisation au moyen du choc anaphylactique	556
— Voir aussi <i>Adjuvants.</i>	
<i>Sérum.</i> Variation du nombre des groupes fonctionnels libres au cours de la dénaturation du — par la chaleur et le formol . .	152
— Voir aussi <i>Maladie sérique, Phagocytose.</i>	

<i>Shigella</i> . Etude de 25 souches de <i>Sh. dysenteriae</i> 2 isolées dans la France d'outre-mer	462
— Action des — sur le milieu à l'acide phényl-propionique	589
<i>Sol</i> . Numération de la microflore totale et microstructure des —	447
— Préparation des suspensions-dilutions de terre pour analyse microbiologique	464
— Microflore tellurique anaérobie active sur le soufre organique.	591
<i>Spiramycine</i> . Etude <i>in vitro</i>	434
<i>Staphylocoques</i> . Voir <i>Antagonisme</i> .	
<i>Syphilis</i> . Influence de facteurs physico-chimiques sur les réactions sérologiques de la —	621
<i>Techniques</i> . — simple de prélèvement de sang chez le lapin	585
<i>Teepol</i> . Voir <i>B. tuberculeux</i> .	
<i>Toxine</i> . Comparaison de différentes préparations de — <i>perfringens</i> A	377
— Voir aussi <i>Choléra</i> .	
<i>Transduction</i> . Voir <i>Bactériophage</i> .	
<i>Tréponèmes</i> . Recherches biochimiques sur <i>T. minutum</i>	127
<i>Tuberculose</i> . L'allergie dans la — expérimentale ; étude histologique du phénomène de Koch	481
— Voir aussi <i>B. tuberculeux</i> .	
<i>Tularémie</i> . Comportement <i>in vivo</i> et <i>in vitro</i> de <i>P. tularensis</i>	137
<i>Virus</i> . L'exsudat péritonéal, source de cellules pour la culture des —	366
— Voir aussi aux différents virus.	

TABLE DES OUVRAGES PRÉSENTÉS OU REÇUS

(TOME 89)

ALBEAUX-FERNET (M.). — <i>Endocrinologie du médecin praticien.</i>	710
<i>Arbeiten aus dem Paul Ehrlich-Institut, dem Georg Speyer-Haus und dem Ferdinand Blum-Institut zu Frankfurt a. M.</i>	371
BACQ (Z. M.) et ALEXANDER (P.). — <i>Principes de radiologie.</i>	708
BACQ (Z. M.), CHEYMOL (J.), DALLEMAGNE (M. J.), HAZARD (R.), LA BARRE (J.), REUSE (J. J.) et WELSCH (M.). — <i>Pharmacodynamie biochimique.</i>	373
BEDSON (S. P.), DOWNIE (A. W.), MACCALLUM (F. O.) et STUART-HARRIS (C. H.). — <i>Virus and rickettsial diseases</i>	374
BETT (W. R.), HOWELLS (L. H.) et MACDONALD (A. D.). — <i>Amphetamine in clinical medicine</i>	272
BONNET (H.) et NÉVOT (A.). — <i>Travaux pratiques de bactériologie.</i> 4 ^e édition.	375
BRACKEN (A.). — <i>The chemistry of microorganisms</i>	598
BRISOU (J.). — <i>Microbiologie du milieu marin</i>	709
BURNET (F. M.). — <i>Principles of animal virology</i>	479
CAZAL (P.). — <i>La masse sanguine et sa pathologie</i>	711
<i>Cellular metabolism and infections</i>	136
<i>Ciba Foundation Symposium on chemistry and biology of pteridines.</i>	136
Comité d'experts de l'éducation sanitaire de la population. Rapport O. M. S.	272
Comité d'experts de la rage. Rapport O. M. S.	270
Comité d'experts pour la standardisation biologique. Rapport O. M. S.	272
EDWARDS (L. B.), PALMER (C. E.) et MAGNUS (K.). — <i>La vaccination par le BCG.</i> Monographie de l'O. M. S.	270
ENSELME (J.) et DREYFUS (J.-C.). — <i>Sémiologie électrophorétique des protéines du plasma sanguin et de l'hémoglobine</i>	135
FRY (A. B.). — <i>The nitrogen metabolism of microorganisms</i>	374
GEIGY (R.) et HERBIG. — <i>Erreger und Ueberträger tropischer Krankheiten.</i>	599
HACKETT (C. J.), BUCKLEY (J. J. C.) et MURGATROYD (F.). — <i>Manual of helminthology</i>	375
HARRIS (L. J.). — <i>Vitamins in theory and practice</i>	600
HARTMANN (J.). — <i>Die Cytologie des Bronchialsekretes</i>	374

HAZEN (E. L.) et REED (F. C.). — <i>Laboratory identification of pathogenic fungi simplified</i>	711
HOUBEN-WEYL. — <i>Methoden der organischen Chemie</i> . Vol. IV, 2 ^e partie : Méthodes chimiques générales	707
HUMMEL (K.). — <i>Die inkompletten Antikörper in der Immunbiologie</i>	599
KLOSE (F.). — <i>Impfschutz als Aufgabe und Förderungen der öffentlichen Gesundheitspflege</i>	710
<i>La progénèse</i>	709
<i>Lectures on the scientific basis of medicine</i> . Vol. III	600
LOVERN (J. A.). — <i>The chemistry of lipids of biochemical significance</i>	376
MORAND (P.). — <i>Aux confins de la vie</i>	478
NAKAMURA (K.). — <i>Allergy and anaphylaxis</i>	598
NÈGRE (L.) et BRETEY (J.). — <i>Les bacilles de Koch incomplètement évolués dans l'infection tuberculeuse</i>	372
<i>Origin of resistance to toxic agents</i>	372
<i>Plan et fonctionnement des fosses septiques</i> . Monographie de l'O. M. S.	272
POLICARD (A.). — <i>Le poumon. Structures et mécanismes à l'état normal et pathologique</i>	375
POPIAK (G.). — <i>Chemistry, biochemistry and isotopic tracer technique</i>	597
<i>Problèmes de structures, d'ultrastructures et de fonctions cellulaires</i>	376
<i>Rage</i> . Bulletin O. M. S.	272
<i>Rage. Techniques de Laboratoire</i> . Monographie de l'O. M. S.	271
RAJAM (R. V.) et RANGIAH (P. N.). — <i>La donovanose (granulome inguinal)</i>	376
SHERLOCK (S.). — <i>Diseases of the liver and biliary system</i>	598
<i>Some physiological aspects and consequences of parasitism</i>	709
<i>The dynamics of virus and rickettsial infections</i>	479
<i>Tumeurs broncho-pulmonaires. Exposés anatomo-cliniques</i>	708
WINKLE (S.). — <i>Mikrobiologische und serologische Diagnostik, mit Berücksichtigung der Pathogenese und Epidemiologie</i>	373

Le Gérant : G. MASSON.